





وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر



دستنامه فنی

اصول علمی و کاربردی

احیا منابع ژنتیکی حبوبات

تالیف:

دکتر معصومه پوراسماعیل، دکتر علی اکبر قنبری، دکتر فاطمه شیخ
اعضای هیات علمی سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی

دستنامه فنی

اصول علمی و کاربردی احیا منابع ژنتیکی حبوبات

نویسندگان: معصومه پوراسماعیل، علی اکبر قنبری، فاطمه شیخ

ویراستار علمی: محمد جعفر آقایی

تهیه شده در: موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

ناشر: مرکز ملی مدیریت منابع ژنتیکی کشاورزی و منابع طبیعی کشور

تاریخ انتشار: پاییز ۱۴۰۰

شمارگان: محدود

نوبت چاپ: اول

این اثر با شماره ۶۰۶۰۸ در تاریخ ۱۴۰۰/۸/۱۸ در مرکز فناوری اطلاعات و

اطلاع رسانی کشاورزی ثبت شده است.

نشانی: تهران، خیابان حافظ، بن بست ایرانیان، مرکز ملی مدیریت منابع ژنتیکی کشاورزی و منابع طبیعی

تلفن: ۶۶۷۲۱۳۵۷ - ۰۲۱

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	پیشگفتار.....
۴	مقدمه.....
۷	اصول کلیدی انجام یک احیا استاندارد.....
۷	اندازه نمونه
۹	مکان و شرایط محیطی احیا
۱۰	حفظ سلامت ژرم پلاسما.....
۱۱	کنترل علف‌های هرز.....
۱۲	مدیریت برداشت و ذخیره سازی
۱۴	حفظ هویت صحیح نمونه‌ها
۱۷	ملاحظات احیا نمونه‌های ژنتیکی نخود.....
۲۱	فصل کاشت و شرایط آب و هوایی.....
۲۲	انتخاب و آماده سازی بستر کشت.....
۲۲	روش احیا و مدیریت زراعی
۲۵	مدیریت برداشت و ذخیره‌سازی.....
۲۶	احیا گونه‌های وحشی
۳۰	ملاحظات احیا نمونه‌های ژنتیکی لوبیا.....
۳۲	کنترل دگر گرفته افشانی و ایزولاسیون.....

۳۳	 فصل کاشت و شرایط آب و هوایی
۳۴	 انتخاب و آماده سازی بستر کشت
۳۴	 روش احیا و مدیریت زراعی
۳۸	 مدیریت برداشت و ذخیره سازی
۴۰	 احیا گونه های وحشی لوبیا
۴۲	 ملاحظات احیا نمونه های ژنتیکی عدس
۴۴	 فصل کاشت و شرایط آب و هوایی
۴۵	 انتخاب و آماده سازی بستر کشت
۴۵	 روش احیا و مدیریت زراعی
۴۷	 مدیریت برداشت و ذخیره سازی
۴۸	 احیا گونه های وحشی
۵۰	 ملاحظات احیا نمونه های ژنتیکی لوبیا چشم بلبلی
۵۲	 کنترل دگر گرده افشانی و ایزولاسیون
۵۳	 فصل کاشت و شرایط آب و هوایی
۵۴	 انتخاب و آماده سازی بستر کشت
۵۴	 روش احیا و مدیریت زراعی
۵۶	 مدیریت برداشت و ذخیره سازی
۵۸	 ملاحظات احیا نمونه های ژنتیکی ماش
۶۱	 فصل کاشت و شرایط آب و هوایی
۶۳	 انتخاب و آماده سازی بستر کشت

۶۳	 روش احیا و مدیریت زراعی
۶۵	 مدیریت برداشت و ذخیره سازی
۶۷	 ملاحظات احیا نمونه های ژنتیکی باقلا
۷۰	 کنترل دگر گرده افشانی و ایزولاسیون
۷۵	 فصل کاشت و شرایط آب و هوایی
۷۵	 انتخاب و آماده سازی بستر کشت
۷۶	 روش احیا و مدیریت زراعی
۷۷	 مدیریت برداشت و ذخیره سازی
۷۹	 فهرست منابع

پیشگفتار

حبوبات تغذیه‌ای جزء قدیمی‌ترین گیاهان زراعی اهلی شده به شمار می‌روند. نخود، عدس و باقلا از کشاورزی بین‌النهرین هلال حاصل‌خیز منشأ گرفته‌اند و همراه با غلات جزئی از رژیم غذایی اصلی تمدن‌های اولیه در مدیترانه و خاورمیانه به شمار می‌روند. شواهد باستان‌شناسی، کشت ماش در هند را حدود ۳۵۰۰ سال پیش نشان می‌دهد و تصور بر این است که اهلی‌سازی این گیاه در هند رخ داده است، اما گزارشاتی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد اهلی‌سازی ماش در ایران اتفاق افتاده است. لوبیا چشم‌بلبلی یکی از محصولات اصلی در اکثر کشورهای آفریقایی است و غرب آفریقا حدود ۸۳٪ از تولید این محصول را به خود اختصاص داده است. کشت این محصول به دلیل توانایی زنده ماندن در خاک‌های با حاصلخیزی کم و تحمل خاک‌های قلیایی، در اکثر مناطق موفقیت‌آمیز است. منشأ لوبیا مرکز و جنوب آمریکا است اما در بیش از ۱۲۰ کشور جهان با سطحی معادل ۲۸/۸ میلیون هکتار کشت می‌شود. هر چند خواستگاه اصلی این دو گیاه ایران نیست اما مدت‌های طولانی است که در مناطق مختلف ایران کشت می‌شوند. با توجه به اهمیت حبوبات در رژیم غذایی بشر هم

از نظر رفع کمبود پروتئین و هم از نظر تامین ریزمغذی‌ها و ویتامین‌های ضروری امروزه توجه زیادی به این گروه گیاهی و حفاظت منابع ژنتیکی آنها می‌شود.

در حال حاضر بانک‌های ژن سراسر جهان در حدود ۷/۴ میلیون ژرم پلاسما از گیاهان زراعی مختلف را نگهداری می‌نمایند، ۱۵٪ نمونه‌های ژنتیکی موجود در این کلکسیون‌های جهانی، متشکل از ۱/۱ میلیون نمونه ژنتیکی را لگوم‌ها (دانه‌ای و علوفه‌ای) تشکیل می‌دهند. در این میان ۱۴۶۸۳۷ نمونه ژنتیکی مربوط به ژرم پلاسما لگوم‌های دانه‌ای است (Malhotra et al., و Smýkal et al., 2015). (2019).

حفظ و نگهداری ژرم پلاسما یکی از مهمترین و اصلی‌ترین وظایف بانک‌های ژن می‌باشد. بذوری که به بانک‌های ژن وارد می‌شوند باید برای استفاده محققین در دراز مدت کاملاً سالم و زیست حفظ و نگهداری شوند تا هم از فرسایش ژنتیکی در درون بانک‌های ژن جلوگیری شود و هم تمامیت و یکپارچگی ژنتیکی این نمونه‌ها با گذشت زمان دچار تغییر نشود. بذر گونه‌های مختلف از نظر طول عمر با یکدیگر تفاوت دارند. این تنوع علاوه بر ویژگی‌های ژنتیکی گیاه، تحت تأثیر عوامل محیطی از جمله تغذیه گیاه مادری، شرایط محیطی، زمان و روش برداشت، بلوغ فیزیولوژیکی توده بذری، شرایط خشک شدن و ذخیره سازی قرار دارد.

زوال بذر فرایندی است که از زمان رسیدن بذر بر روی گیاه مادری آغاز می‌شود و سرعت آن به عوامل متعددی نظیر ژنتیک، خسارت‌های ناشی از شرایط محیطی طی رسیدن بذر روی گیاه مادری، خسارت‌های وارده به بذر طی فراوری، شرایط نگهداری به ویژه دما و رطوبت و کیفیت اولیه بذر بستگی دارد.

هدف از تهیه نوشتار حاضر ارائه اطلاعات لازم و ضروری جهت احیا صحیح منابع ژنتیکی حبوبات و حفظ تمامیت و یکپارچگی ژنتیکی نمونه‌های طی مراحل انجام احیا است. پرتکل‌های احیا ارائه شده بر مبنای راهنمای احیا ۲۱ گیاه زراعی که در سال ۲۰۰۸ به همت صندوق جهانی تنوع محصولات زراعی^۱ و موسسه بین‌المللی ذخائر توارثی^۲ منتشر شد، تهیه شده است. علاوه بر آن مواردی که تجربیات اهل فن، سایر منابع موجود و یا تجربیات شخصی نگارندگان کمکی در تفهیم و یا کاربردی‌تر نمودن دستورالعمل‌ها داشته نیز به این مجموعه اضافه شده است.

در مجموع اهداف این دستنامه آشنایی با استانداردهای بین‌المللی احیا منابع ژنتیکی حبوبات و ارائه پرتکل‌های عملیاتی برای انجام صحیح این مهم در بانک‌های ژن می‌باشد. دامنه کاربرد مخاطبین این دستنامه اساتید، محققان، کارشناسان، دانشجویان و کلیه دست‌اندرکاران حفاظت از منابع ژنتیکی و بانک‌های ژن می‌باشد. همچنین مروجان، جوامع محلی و کشاورزان پیشرو علاقمند به حفظ منابع ژنتیکی به صورت بانک‌های ژن محلی^۳ نیز می‌توانند از این دستنامه استفاده نمایند.

1- Global Crop Diversity Trust

2- Bioversity International

3- Community seed banking

مقدمه

احیا یک عملیات کلیدی و مسئولیت جدایی ناپذیر از هر بانک ژنی است که بذور گیاهان ارتدوکس را نگهداری می‌کند. احیا فرآیندی است که برای افزایش مقدار بذر ذخیره شده در بانک ژن و یا برای افزایش قدرت حیات بذرها تا حد و یا بالاتر از سطح حداقل مورد توافق، تحت عنوان آستانه احیا، صورت می‌گیرد.

هدف از احیا حفظ تنوع ژنتیکی و ساختار اصلی یک نمونه ژنتیکی است.

یک نمونه زمانی احیا می‌شود که یا مقدار بذر کافی (۱۵۰۰ بذر برای گونه های خودگشن و ۳۰۰۰ بذر برای گونه های دگرگشن) برای ذخیره سازی طولانی مدت نداشته باشد و یا قدرت حیات آن به زیر آستانه احیا (زیر ۸۵ درصد قدرت حیات اولیه بذرها (ذخیره شده) کاهش یافته باشد (FAO, 2014). این کاهش ممکن است به دلیل عدم وجود قدرت حیات مناسب در زمان ذخیره سازی و یا نامناسب بودن شرایط ذخیره سازی برای حفاظت طولانی مدت رخ دهد. احیا در زمانی که موجودی بذر به واسطه استفاده های متعدد کاهش یافته باشد و مقدار بذر باقی مانده کمتر از مقدار بذر مورد نیاز برای سه کشت نماینده ای از جمعیت یک نمونه باشد، نیز در اولویت قرار می‌گیرد.

از آنجایی که احیا، فعالیتی است که ترکیب ژنتیکی یک نمونه و تمامیت ژنتیکی آن را تحت تاثیر قرار می‌دهد دقت و مراقبت زیادی را می‌طلبد. هر احیا به خصوص برای نمونه‌های دگرگشن احتمال ازدست رفتن آلل‌های نادر و یا تغییر پروفیل ژنتیکی نمونه را بالاتر می‌برد. از اینرو تعداد دفعات احیا باید تا حد

ممکن به حداقل برسد. در نتیجه، مسئولین کلکسیون‌های بانک ژن باید تعادل ظریفی را برقرار کنند تا از یک طرف از احیاهای مکرر جلوگیری شده و خطر تحت تاثیر قرار گرفتن تمامیت ژنتیکی یک نمونه کاهش پیدا کند، از طرف دیگر مانع از دست رفتن قوه نامیه شود. از اینرو مدیریت فعال کلکسیون‌ها برای اتخاذ تصمیم در خصوص بهترین زمان احیا بسیار کمک کننده است.



برای این منظور باید فرایند احیا و شرایط نگهداری پس از آن بهینه باشد تا کمترین آسیب به نمونه‌ها وارد شده و لذا تعداد سیکل‌های احیا کاهش پیدا کند علاوه بر این باید برای توزیع و مبادله بذر حداقل تعداد بذر مد نظر قرار گیرد تا تعداد سیکل‌های احیا کاهش پیدا کند و زمانی که مشخص است یک نمونه ژنتیکی تقاضای بیشتری دارد بهتر است در هر سیکل احیا با ورود تعداد بیشتری بوته در سیکل احیا تعداد سیکل‌های احیا لازم به حداقل برسد (Humeid et al., 1998 و 2014, FAO).

قوه نامیه آستانه برای احیاء در گیاهان مختلف بسته به نوع گونه (وحشی، زراعی) و قوه نامیه زمان ذخیره سازی متفاوت است. به عنوان یک قرار داد کلی قوه نامیه آستانه احیاء ۸۵ درصد قوه نامیه زمان ذخیره سازی در نظر گرفته می‌شود (FAO, 2014). برای برخی از توده‌ها، نمونه‌های خاص و گونه‌های وحشی قوه نامیه ۸۵ درصد در دانه‌های تازه به ندرت دیده می‌شود. در این شرایط، استاندارد آستانه قوه نامیه، پایین تر (مثلاً ۷۰ درصد یا کمتر) در نظر گرفته می‌شود. با این حال اولویت احیا در بانک‌های ژن مختلف و در هر بانک ژن بر اساس نوع

کلکسیون می تواند متغیر باشد به عنوان مثال در ایکاردا اولویت احیا موجودی ۵۰۰ عدد بذر و یا جوانه زنی زیر ۷۵ درصد در نظر گرفته می شود. در حالی که در ایکریست موجودی زیر ۱۰۰ گرم و قدرت جوانه زنی زیر ۷۵ درصد به عنوان اولویت احیا در نظر گرفته می شود. اما همیشه احیا نمونه هایی که قوه نامیه پایینی دارند در مقایسه با آنهایی که مقدار بذر کمتری دارند در اولویت بیشتری قرار دارد. همچنین احیا نمونه های کلکسیون پایه در مقایسه با کلکسیون فعال در اولویت قرار دارد.

احیا نمونه هایی که قوه نامیه پایینی دارند در مقایسه با نمونه هایی که مقدار بذر کمتری دارند در اولویت بیشتری قرار دارد.

احیا باید با حداقل تغییر ممکن در تمامیت ژنتیکی نمونه ها و به حداقل رساندن فرسایش ژنتیکی انجام شود. از اینرو استفاده از دستورالعمل های توصیه شده برای احیای نمونه های بذری با حداقل چرخه های احیا، با جمعیت های به حد کافی بزرگ، نمونه برداری متعادل، استفاده از روش های جداسازی مناسب بین کرت های گونه های دگر گرده افشان و کنترل گرده افشانی با در نظر گرفتن فاصله های ایزولاسیون توصیه شده و یا استفاده از قفس های ایزوله و توری و استفاده از گرده افشان های خاص باید مد نظر قرار گیرند (Dulloo et al., 2008).

اصول کلیدی انجام یک احیا استاندارد

روش احیا از گونه‌ای به گونه دیگر متفاوت است و به اندازه جمعیت، سیستم اصلاحی و نوع گرده‌افشانی بستگی دارد. بنابراین، تا حد ممکن اطلاعات بیولوژیکی مشخصی از گونه مورد نظر باید جمع آوری شود. در امر احیا باید توجه شود (۱) تمامیت و یکپارچگی نمونه مورد نظر حفظ شود، (۲) از کارایی فرآیند احیا اطمینان حاصل شود، به این معنی که روش احیا و شرایط کشت و رشد و نمو نمونه موجب شود که گیاه وارد فاز زایشی شده و به میزان کافی تولید بذر نماید و (۳) بذر تولید شده از نظر قدرت حیات و سلامت بذر از کیفیت مناسبی برخوردار باشد. در ادامه به تفصیل به عوامل اساسی که برای رسیدن به این سه اصل باید مورد توجه قرار گیرد اشاره می‌شود.

اندازه نمونه

برای به حداقل رساندن فرسایش ژنتیکی در طول احیا، اندازه کرت‌ها تا حد ممکن بزرگ در نظر گرفته شده و تعداد گیاه بیشتری از هر نمونه ژنتیکی کشت می‌شود تا از تولید دانه کافی برای جایگزینی در کلکسیون‌های فعال و پایه اطمینان حاصل شود. این تعداد بسته به مقدار بذر مورد نیاز تعیین می‌شود اما برای کاهش تعداد سیکل‌های احیا معمولاً با تعداد بیشتری دانه صورت می‌گیرد. در زمانی که نمونه برای اولین بار وارد بانک ژن شده باشد ۸۰ درصد نمونه برای احیا ارسال می‌شود تا نمونه حاصل از احیا نماینده نمونه اصلی بوده و از رانش ژنتیکی ممانعت شود (Dulloo et al., 2008).

برداشت بذر برای کشت از نمونه‌های ژنتیکی باید به صورت تصادفی انجام شود. اندازه نمونه‌ای که برای فعالیت احیا استفاده می‌شود باید منعکس‌کننده ترکیب ژنتیکی آن نمونه خاص باشد. برای این منظور، اندازه موثر جمعیت پارامتر کلیدی است که برای هر نمونه، بر اساس سیستم گرده‌افشانی و شرایط رشد و با هدف به حداقل رساندن از دست دادن آلل‌های نادر قابل تخمین می‌باشد. تخمین تعداد بذر مورد نیاز برای احیا باید با در نظر گرفتن تعداد گیاهان مورد نیاز برای احیا، جوانه‌زنی و میزان استقرار مزرعه (Rao et al., 2006)، مقدار بذر مورد نیاز برای فرآیندهای پس از احیا (ذخیره‌سازی در سردخانه‌های فعال و پایه) و اینکه آیا ارزیابی‌های عمومی و تخصصی با پروژه احیا مرتبط هستند باید به دقت محاسبه شود.

$$\text{تعداد بذر مورد نیاز برای کشت به منظور احیا} = \frac{\text{تعداد گیاه مورد نیاز}}{\text{درصد استقرار در مزرعه} \times \text{درصد جوانه زنی}}$$

در این رابطه، درصد جوانه‌زنی و استقرار مزرعه باید به صورت اعشاری بیان شود. به عنوان مثال در صورتی که درصد جوانه‌زنی ۹۵ درصد باشد در رابطه محاسباتی عدد ۰/۹۵ وارد می‌شود. به‌طور کلی استقرار گیاه در شرایط نامناسب ۵ درصد و در شرایط مناسب یک درصد کمتر از درصد جوانه‌زنی می‌باشد. به‌طور کلی برای حفظ آلل‌های نادر کاربرد ۹۰ تا ۲۱۰ بذر برای کشت پیشنهاد شده است (Dulloo et al., 2008). برای احیا گیاهان دگرگشن معمولاً تعداد بوته بیشتری در نظر گرفته می‌شود. این موضوع در گونه‌های خودگشن به درجه تنوع درون نمونه ژنتیکی بستگی دارد.

مکان و شرایط محیطی احیا

علاوه بر ملاحظات نمونه برداری، مکانی که برای احیا در نظر گرفته می شود باید طوری انتخاب شود که فشار انتخاب روی ژنوتیپ ها یا جمعیت به حداقل رسد. از این رو، بهتر است که شرایط محیطی مطلوب برای تولید بذر و به حداقل رساندن رقابت گیاهان با یکدیگر فراهم شود. بنابراین باید یک هماهنگی بین شرایط مطلوب عمومی و شرایط اختصاصی (نظیر دوره نوری، شرایط تغذیه ای و یا شرایط آب و هوایی) که ویژه سازگاری محلی یک نمونه خاص می باشد وجود داشته باشد. علاوه بر توجه به شرایط اقلیمی بسته به گونه و منطقه زمان مناسب کشت باید مورد توجه قرار گیرد. برای جلوگیری از هرگونه فشار انتخاب در اثر خشکی و همچنین اطمینان از عملکرد خوب، حتی برای محصولات دیم باید آبیاری مناسب انجام شود (Dulloo et al., 2008).

آزمایش مواد مغذی خاک برای تعیین کودهای مورد نیاز توصیه می شود. نمونه های ژنتیکی بومی و خویشاوندان وحشی با سطح بالای نیتروژن سازگار نیستند. برای جلوگیری از رشد بیش از حد این گیاهان، که می تواند منجر به افزایش ارتفاع و ورس گیاه و همچنین آلودگی به برخی بیماری ها شود، سطح پایین تری از کودهای ازته (۶۰ درصد نرخ توصیه شده به کشاورزان) اعمال شود (Dulloo et al., 2008).

برای اطمینان از تولید دانه کافی برای جایگزینی بذر در کلکسیون های فعال و پایه اندازه کرت ها به اندازه کافی بزرگ در نظر گرفته شود. رعایت پیش نیازهای جوانه زنی و رشد از جمله تیمارهای مناسب برای رفع خفتگی بذر به ویژه در گیاهان وحشی یا تیمارهای ورنالیزاسیون برای گلدهی باید مد نظر قرار گیرد. احیا نمونه های ژنتیکی گونه های وحشی که نیاز به طول روز طولانی و هوای خنک

دارد معمولاً در گلخانه و در شرایط کنترل شده انجام می‌شود. همچنین احیاء گیاهانی که دوره زمانی زیادی از زمان کاشت تا رسیدن به مرحله زایشی نیاز دارند، نیز در مزرعه غیر عملی بوده و توصیه می‌شود در گلخانه انجام شود. گونه‌های چندساله از نظر شرایط آب و هوایی و خاکی نیازهای خاصی دارند (Kaiser et al., 1997). بنابراین در زمان احیا نمونه ضرورت دارد دانش و شناخت بیولوژیکی کافی از یک نمونه ژنتیکی کسب شود.

حفظ سلامت ژرم پلاسما

بذور احیا شده باید از هرگونه بیماری بذرزاد و آفات عاری باشد. فشار بیماری همچنین می‌تواند منجر به تغییر ترکیب ژنتیکی نمونه‌های ژنتیکی شود. از اینرو در طول آماده سازی قطعات برای احیا، توجه می‌شود تا زمین تا حد ممکن از علف‌های هرز و آفات و بیماری‌های خاکزاد عاری باشد. برای کاهش خطر آلودگی با گیاهان مشابه و همچنین جلوگیری از تجمع آفات و بیماری‌ها، احیا نباید در مزارعی که قبلاً همان محصول کشت شده است انجام شود. با توجه به اینکه برخی نمونه‌ها ممکن است بسیار حساس به آفات و بیماری‌ها باشند استفاده از مکان‌هایی که برای آفات و بیماری مساعد نباشد برای اهداف احیاء نمونه‌ها توصیه می‌شود و سولاریزاسیون خاک برای از بین بردن بیماری‌های خاکزاد باید استفاده شود. برای اطمینان از سلامتی بذر ضرورت دارد تا در طول فرآیند احیا سلامت گیاهان مورد نظارت و پایش قرار گیرد و هر گونه گیاه آلوده از کرت‌ها حذف شود. استفاده از سموم مناسب برای مبارزه با آفات و بیماری‌ها، جداسازی گیاهان بیمار قبل از برداشت محصول و بازرسی بذر به ویژه برای بیماری‌های بذرزاد پس از برداشت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است تا از تکثیر و

ذخیره‌سازی بذر سالم اطمینان حاصل شود (Dulloo *et al.*, 2008). برای شناسایی علائم آفات و بیماری‌ها و اقدامات مناسب کنترل بهتر است احیا با همکاری و مشورت با متخصصین پاتولوژی صورت پذیرد. قبل از ذخیره‌سازی در صورت وجود نشانه‌هایی از حمله حشرات بذرها با کاربرد سموم تدخینی ضد عفونی می‌شوند تا آفات و بیماری‌ها کاهش یابد. این امر به‌طور کلی برای ذخیره‌سازی طولانی مدت توصیه نمی‌شود.

کنترل علف‌های هرز

برای حذف رقابت علف‌های هرز برای دستیابی به نور و مواد مغذی باید کنترل آنها به خوبی در طی مراحل رشد صورت پذیرد. از روش‌های مختلف مثل استفاده از علف‌کش‌ها یا شخم عمیق برای از بین بردن علف‌های هرز استفاده می‌شود. در مقایسه با نمونه‌های زراعی، مواد بانک ژنی ممکن است واکنش بسیار متفاوتی نسبت به علف‌کش‌ها نشان دهند. بنابراین از استفاده غیرضروری از علف‌کش که موجب به خطر افتادن یکپارچگی ژنتیکی نمونه‌های ژنتیکی می‌شود باید اجتناب شود. در شرایطی که علف‌کش ممکن است به گیاه صدمه بزند، کنترل دستی علف‌های هرز لازم است. به‌طور کلی در حبوبات برای مدیریت علف‌های هرز، می‌توان مستقیماً پس از کاشت، از مخلوط علف‌کش‌های قبل از سبز شدن استفاده کرد که هم علف‌های هرز باریک‌برگ و هم پهن‌برگ را هدف قرار دهد. برای این منظور در ایکاردا برای احیا نمونه‌های ژنتیکی نخود، عدس و باقلا از مخلوطی از پروپیزامید^۱ و تربوترین^۲ استفاده می‌شود.

1-Propyzamide

2-Terbutryn

مدیریت برداشت و ذخیره سازی

برای اطمینان از ذخیره سازی بذور با کیفیت باید به زمان برداشت نمونه‌ها توجه کافی شود. اجتناب از برداشت بذور نارس یا بذوری که به مدت طولانی در محیط طبیعی قرار داشته‌اند، بسیار اهمیت دارد. برداشت و کوبیدن نمونه‌ها به صورت دستی یا ماشینی قابل انجام است، اما باید دقت شود که از خطاهای انسانی و یا اختلاط ماشینی اجتناب شود.

برداشت به موقع و بی درنگ هنگام رسیدن، کاهش زوال کیفیت بذر قبل از ذخیره سازی را موجب می شود. تاخیر در برداشت و فعالیت‌های پس از برداشت نظیر کوبیدن محصول و به‌ویژه خشک شدن منجر به قرار گرفتن بذر در شرایط دمایی و رطوبتی نامناسب شده و باعث افت شدید قدرت حیات و طول عمر بذر می شود. برداشت تدریجی و به تناوب برای گیاهانی که رشد نامحدود هستند و ریزش بذر یا شکوفائی نیام دارند توصیه می شود. اگر بین گیاهان از نظر مراحل فنولوژیکی تفاوت وجود دارد، بهتر است گیاهان جداگانه برداشت و نسبت مساوی بذر از گیاهان مختلف مخلوط شود.

استانداردهای خشک کردن و تعیین قوه نامیه بذر های احیا شده باید قبل از ذخیره سازی به دقت مورد توجه و ارزیابی قرار گیرد چرا که این موضوع از طریق افزایش طول عمر بذر به کاهش دفعات احیاء و کاهش هزینه‌های بانک ژن و خطر فرسایش ژنتیکی کمک موثری می نماید. برای جلوگیری از تاثیرات مخرب خشک شدن قبل از کوبیدن ضرورت دارد بذرها در رطوبت ۱۵-۲۰ درصد و در دمای ۱۵ درجه سانتی گراد نگهداری شوند (Kameswara Rao and Sastry, 1998). میزان رطوبت مناسب برای ذخیره سازی بذر حبوبات ۳ تا ۷

درصد است. برای این منظور بذرها در اتاق خشک کن در دمای ۱۵ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۱۵-۲۰ درصد خشک می شوند. در صورتی که اتاق شک کن در دسترس نیست یا بذرها در دمای محیط با رطوبت کم به مدت سه هفته قرار داده می شوند و یا با استفاده از سیلیکا ژل یا ماده خشک کننده مناسب دیگر به سطح رطوبت مورد نظر رسانده می شوند (Street et al., 2008).

در اغلب موارد، برداشت مقدار کافی دانه از خویشاوندان وحشی با توجه به تعداد کمتر دانه/ بوته نسبت به گونه های دیگر، و یا مکانیسم پراکنش دانه مانند ریزش و یا شکوفایی نیام دشوار است. بنابراین لازم است اطمینان حاصل شود که از شیوه ای مناسب برای دستیابی به مقدار دانه بیشتر استفاده می شود. استفاده از شبکه هایی برای گیر انداختن دانه های در حال ریزش یکی از عملیاتی ترین و کاربردی ترین روش ها می باشد (شکل ۱).



شکل ۱- گونه *Lens odemensis* (الف) و نمای نزدیک تر از نیام های آن (ب). در زمان احیا، زیر کانوپی گیاه برای جلوگیری از هدر رفتن بذور به دلیل شکوفا بودن نیام ها به طور کامل با استفاده از توری های ریز منفذ پوشانده شده است.

حفظ هویت صحیح نمونه‌ها

در طول فرآیند احیا از آماده‌سازی بذر تا مرحله پس از برداشت، باید مراقبت شود که بذره‌ای یک نمونه ژنتیکی معین با شماره و هویت صحیح باقی بمانند. همیشه بسته‌های دانه، قطعه و مواد برداشت شده را با شماره شناسه مناسب برچسب بزنید به گونه‌ای که امکان مخلوط شدن یا از دست دادن هویت نمونه وجود نداشته باشد. علاوه بر این در طی مراحل رشد گیاه و پس از برداشت داده‌های مشخصاتی نظیر عادت رشد، رنگ گل، رنگ بذر و شکل بذر که قبلاً برای آن نمونه ثبت شده با نمونه احیا شده مقایسه می‌شود. اگر هویت نمونه مورد تردید قرار گرفت و با نمونه اصلی یکی نبود، نمونه احیا شده کنار گذاشته می‌شود (Street *et al.*, 2008a).

همیشه مقداری از بذره‌های اولیه هر نمونه نگهداری شود تا در آینده بتواند به عنوان مرجع اولیه استفاده شود. حتی اگر این دانه اصلی قوه‌نامیه خود را از دست داده باشد اما برای تأیید مورفولوژی آخرین نسل از یک نمونه ژنتیکی مفید خواهند بود (شکل ۲). توصیه می‌شود که نمونه بذر مرجع در یک کیسه پلاستیکی کوچک و در یک هر زمان که نمونه احیا می‌شود، می‌توان بذر تازه برداشت شده را با نمونه بذر مطابقت داد تا صحت عملیات احیا تأیید شود. محیط خشک در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شود. هویت بذر می‌تواند با مقایسه با داده‌های ارزیابی‌های قبلی از خصوصیات اصلی یا صفات خاص، در صورت موجود بودن، نیز تأیید شود (Dulloo *et al.*, 2008).

حداقل ۵۰ دانه از جمعیت اولیه و یا نمونه‌های نزدیک‌تر به نمونه اصلی باید به عنوان مرجع به صورت طولانی مدت ذخیره سازی شود



شکل ۲- نمونه‌های بذری لوبیا که برای انطباق هویت نمونه‌ها پس از احیا درون لوله‌های آزمایش در دمای محیط در هرباریوم بانک ژن گیاهی آلمان نگهداری شده‌اند.

علاوه بر موارد ذکر شده توجه به نکات زیر برای انجام فرآیند احیا استاندارد ضرورت دارد:

۱) در مواردی که جمع‌آوری اصلی یا نمونه اهدایی، تعداد بذر کمی داشته باشد، لازم است احیا بلافاصله پس از دریافت مواد برای به دست آوردن مقدار بذر کافی برای ذخیره سازی طولانی مدت انجام شود.

۲) در طول انجام اولین احیا یک نمونه جدید در بانک ژن لازم است که اطلاعات مهم مرجع (تهیه نمونه هرباریومی، عکس و یا توصیف نمونه اصلی) تهیه شود.

۳) اگر یک نمونه به ندرت مورد درخواست بوده و قدرت حیات بذر آن خوب باشد، زمان احیا می‌تواند تا زمانی که تعداد بذر به زیر ۱۰۰۰ عدد برسد به تعویق افتد. (تعداد زیاد دانه برای گونه‌ها و یا نمونه‌هایی که به ندرت مورد درخواست می‌باشند نیاز نمی‌باشد).

۴) به منظور حفظ تمامیت ژنتیکی نمونه‌ها توصیه می‌شود برای احیا از بذرهای اصلی‌تر استفاده شود. در بانک ژن آلمان (IPK) برای احیا تا زمانی که مقدار بذر به اندازه کافی باشد و نمونه اصلی قوه نامیه‌اش کمتر از ۵۰ درصد نباشد از همان نمونه اولیه استفاده می‌شود.

۵) موجودی بذر کلکسیون پایه قطعا باید از بذرهای اصلی یا بذرهایی که نزدیک تر به بذر اصلی هستند تکمیل شود. در کلکسیون فعال می توان از بذرهای احیا شده قبلی نیز برای احیا استفاده نمود اما منبع بذر مورد استفاده بیش از پنج سیکل احیا از نمونه اصلی فاصله نگرفته باشد. این بذور تنها در کلکسیون فعال باقی مانده و در کلکسیون پایه جایگزین نمی شوند

۶) بذرسیکل های احیا مختلف با هم مخلوط نشده و هر یک جداگانه نگهداری می شوند.

۷) برای اطمینان از حفظ مقدار کافی از بذور، تکرار چرخه احیا نیز ممکن است مورد نیاز باشد.

۸) ضرورت دارد اطلاعات مربوط به چرخه های احیا و تمام اطلاعات مربوط به آن به نحو مطلوبی در بانک اطلاعاتی بانک ژن وارد گردد. این اطلاعات شامل داده های مربوط به شماره نمونه، محلی که احیاء در آن صورت گرفته، شرایط مزرعه، روش کشت، تاریخ احیا، پروتوکل شکست خواب بذر، مدیریت زراعی انجام شده شامل نوع و روش آبیاری، کوددهی، وجین علف هرز، کنترل آفات و بیماری ها و تاریخ برداشت می شوند.

۹) انجام ارزیابی کامل در طول چرخه احیا نمونه ها ممکن است تعداد نمونه هایی که می تواند در هر چرخه احیا شود را کاهش دهد. اما از آنجایی که ارزیابی فرآیندی وقت گیر و پرهزینه است، توصیه شده است تا حد امکان، ارزیابی به طور تلفیقی با احیا و تکثیر انجام شود. البته این موضوع برای گونه های دگرگرفته افشان، به دلایل عملیاتی اغلب مشکل است که از فرآیند احیا برای انجام ارزیابی استفاده شود.

ملاحظات احیا نمونه‌های ژنتیکی نخود

نخود بعد از لوبیا، دومین محصول جهانی است که در ۵۶ کشور جهان با سطحی معادل ۱۷/۸ میلیون هکتار کشت می‌شود (FAO, 2019). این گیاه تا ۸۰ درصد نیتروژن مورد نیازش را از طریق تثبیت اتمسفری به دست آورده (Biabani et al., 2011) و بسته به سطح نیترات خاک می‌تواند تا ۱۲۸ کیلوگرم نیتروژن در هکتار در طول فصل رشد از نیتروژن اتمسفری را تثبیت کند (Herridge, 2013). هشتاد درصد تولید جهانی نخود مربوط به مناطق جنوب و جنوب شرق آسیا است. هندوستان با تخصیص ۶۵ درصد تولید جهانی بزرگترین مرکز تولید نخود است.

جنس نخود متشکل از ۹ گونه یکساله و ۳۴ گونه چند ساله است. در میان گونه‌های یک ساله گونه *Cicer arietinum* تنها گونه زراعی نخود بوده و ۸ گونه یکساله دیگر وحشی هستند. گونه‌های نخود معمولاً بر اساس فاصله ژنتیکی از گونه زراعی *C. arietinum* به سه یا چهار گروه تقسیم می‌شوند. گونه‌های *C. echinospermum* و *C. reticulatum* (جد وحشی نخود زراعی) ذخیره ژنی اولیه نخود زراعی را تشکیل می‌دهند، بعضی از محققین گونه وحشی چند ساله *C. anatolicum* را نیز با گونه‌های ذخیره ژنی اولیه گروه‌بندی می‌کنند. نزدیک‌ترین گروه بعدی به گونه زراعی از گونه‌های *C. bijugum*، *C. judaicum* و *C. pinnatifidum* تشکیل شده است. گونه‌های وحشی یک ساله *C. yamashitae*، *C. chorassanicum* و *C. cuneatum* ذخیره ژنی ثالثیه نخود زراعی را تشکیل می‌دهند و دورترین فاصله را از گونه زراعی دارند (Street et al., 2008a).

بر اساس آخرین آمارها منابع ژنتیکی نخود جهان شامل ۹۸۳۱۳ نمونه ژنتیکی است که در ۴۴ بانک ژن در سراسر دنیا نگهداری می‌شوند (پوراسماعیل، ۱۴۰۰). کلکسیون موسسه تحقیقات بین‌المللی گیاهی برای نواحی نیمه خشک (ایکریست) با ۱۹۹۵۹ نمونه ژنتیکی نخود زراعی و ۳۰۸ نمونه ژنتیکی از ۱۸ گونه وحشی نخود بزرگترین کلکسیون این گیاه دارد. سایر بانک‌های ژن شامل بانک ژن هند^۱ با داشتن ۱۶۸۸۱، ایکاردا با داشتن ۱۳۸۱۸، استرالیا^۲ با داشتن ۸۶۵۵، آمریکا^۳ با داشتن ۶۷۸۹ و بانک ژن گیاهی ملی ایران با داشتن ۵۷۰۰ نمونه ژنتیکی به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار دارند (Sharma et al., 2013).

تنوع بسیار زیادی در صفات مورفولوژیکی، فنولوژیکی و صفات مربوط به بذر در گونه زراعی نخود وجود دارد. صفات تعداد نیام در بوته، تعداد بذر در هر نیام، وزن ۱۰۰ دانه و تعداد شاخه فرعی بیشترین تنوع فنوتیپی را میان صفات کمی و صفات تعداد برگچه در برگ، رنگ بذر، عادت رشد و بافت پوسته بیشترین تنوع صفات کیفی را دارا می‌باشند (پور اسماعیل و همکاران، ۱۳۸۹). در نمونه های ژنتیکی نخود زراعی بانک ژن گیاهی ملی ایران عادت رشد از نیمه ایستاده، نیمه خوابیده و خوابیده، رنگ گل از ارغوانی، صورتی، سفید (شکل ۳ الف)، پوشش دانه تنوع زیاد از سیاه، قهوه‌ای روشن و تیره، بژ، زرد و سبز (شکل ۳ ب)، ارتفاع گیاه از ۱۶ تا ۴۰ سانتی متر، عرض گیاه از ۱۵ تا ۸۷ سانتی متر، روز تا گلدهی از ۳۵ تا ۸۹ روز، روز تا رسیدگی از ۸۰ تا ۱۲۷ روز، وزن صد دانه از

1 - National Bureau of Plant Genetic Resources

2 - Australian Temperate Field Crops Collection

3 - United States Department of Agriculture; USDA

۶-۳۷ گرم، شکل دانه از شکل‌های زاویه دار، سر گرد نامنظم و نخود فرنگی شکل، بافت دانه از نرم، سخت و غده‌ای متغیر می‌باشد (پوراسماعیل، ۱۴۰۰).



شکل ۳ (الف) - تنوعی از اندازه و رنگ گل، تعداد و اندازه برگچه در کلکسیون نخود زراعی بانک ژن گیاهی ملی ایران (پوراسماعیل، ۱۴۰۰)



شکل ۳ (ب) - تنوع رنگ، شکل و بافت بذر در تیپ های مختلف نخود زراعی

زمانی که ذخیره بذری نمونه های نخود به زیر ۱۰۰۰ دانه کاهش یابد یا زمانی که درصد جوانه زنی در زمان پایش دوره ای قدرت حیات بذر زیر ۷۵ درصد باشد، زمانی که بیش از ۲۵ درصد بذرها یک نمونه ژنتیکی دارای آلودگی های قارچی از گونه های *Aspergillus*، *Cladosporium*، *Curvularia*، *Fusarium*، *Alternaria*، *Penicillium*، *Macrophomina*، *Phoma* و *Rhizopus* باشند و زمانی که تقاضای بالایی برای یک نمونه ژنتیکی وجود داشته باشد، احیا انجام می شود (Street et al., 2008a). از آنجایی که کلیه گونه های نخود خود گشن هستند احیا آن ها بدون در نظر گرفتن ملاحظات خاصی در خصوص گرده افشانی صورت می گیرد.

فصل کاشت و شرایط آب و هوایی

نخود یکی از حبوبات فصل سرد است و به عنوان یک محصول زمستانی در مناطق استوایی و به عنوان یک محصول تابستانی یا بهاری در مناطق معتدل رشد می‌کند. دما، طول روز و در دسترس بودن رطوبت سه عامل اصلی موثر بر قدرت تولید این گیاه هستند. به‌طور کلی، توان گل‌دهی در دمای پایین و همچنین در روزهای کوتاه به تأخیر می‌افتد. تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسما نخود برای پاسخ به تغییر در طول روز (حساسیت به دوره نوری) و همچنین برای پاسخ به تغییر در دما (حساسیت حرارتی) وجود دارد (Gaur *et al.*, 2010). نیاز دمایی برای رشد نخود در مراحل مختلف رشد متفاوت است، اما بیشینه دمای بهینه ۲۱-۲۹ درجه سانتی‌گراد و کمینه دمای بهینه ۱۵-۲۱ درجه سانتی‌گراد عنوان شده است (Imtiaz *et al.*, 2011). نخود در مرحله تولید مثل به دمای بالا (حداکثر دمای روزانه بیش از ۳۵ درجه سانتی‌گراد) و پایین (میانگین حداکثر و حداقل دمای روزانه کمتر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد) حساس است. دماهای پایین و بالا موجب ریزش گل‌ها و عدم تشکیل غلاف می‌شوند (Gaur *et al.*, 2010). مقاومت برگی نخود در دماهای بالاتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد بیشتر از اجزاء تولید مثلی است (Basu *et al.*, 2009). دماهای بالاتر از ۳۵ درجه سانتی‌گراد در مرحله تشکیل غلاف، موجب کاهش باروری غلاف، تشکیل دانه و عملکرد دانه می‌شود (Wang *et al.*, 2006). در ایران، کاشت بهاره این گیاه امکان‌پذیر است و برای احیا کاشت بهاره در اواخر اسفند ماه انجام می‌شود.

انتخاب و آماده سازی بستر کشت

نخود در انواع مختلف خاک با موفقیت رشد می کند (Gaur *et al.*, 2010). اما در صورت امکان برای احیا از خاک های نرمال با pH نزدیک به خنثی (۷/۵) استفاده شود (Street *et al.*, 2008a). خاک شور و مزارع دارای سفره آب زیرزمینی بالا برای نخود مناسب نیستند. گیاه نخود نسبت به زهکشی نامطلوب خاک بسیار حساس است. فشردگی سطح مزرعه موجب ممانعت ظهور گیاهچه و رشد گیاه می شود. بنابراین، مزرعه باید از شیب و زهکشی خوبی برخوردار باشد (Gaur *et al.*, 2010).

شخم عمیق و برگرداندن خاک و کلوخه شکنی برای فراهم سازی یک بستر صاف و یکدست برای کاشت نخود اهمیت ویژه ای دارد. برای اطمینان از ذخیره مناسب رطوبت خاک در زمان کاشت، خاک باید در زمان کاشت زهکشی خوبی داشته باشد و عاری از علف های هرز باشد. برای اطمینان از جوانه زنی خوب، انجام آبیاری قبل از کاشت توصیه می شود (Street *et al.*, 2008a).

روش احیا و مدیریت زراعی

برای کشت بذرها، ابتدا بذرها با قارچ کش و حشره کش مناسب تیمار می شوند. برای جمعیت هایی که تنوع زیادی دارند مانند توده های بومی، برای احیا از ۴۸۰ دانه کاشته شده در چهار ردیف (۱۲۰ دانه در هر ردیف) به طول ۴ متر استفاده می شود. برای مواد پیشرفته اصلاحی که خالص هستند، حداقل یک کیلوگرم یا ۸۰۰۰-۱۲۰۰۰ بذر برای تامین مقادیر کافی بذر کاشته می شود. حداقل ۴۵ سانتی متر بین ردیف ها فاصله باشد و فاصله کرت های آزمایشی با یکدیگر ۹۰ سانتی متر در نظر گرفته شود. در ایکاردا در هر سیکل احیا چهار ردیف به طول ۴ متر و با کاربرد ۲۴۰ عدد بذر برای احیا استفاده می شود و بسته

به گونه فاصله کرت‌های ۱ تا ۱/۵ متر در نظر گرفته می‌شود. در ایکریست^۱ حداقل ۸۰ بوته باید برای احیا هر نمونه ژنتیکی^۲ مد نظر قرار گیرد.

کشت این گیاه به منظور احیا به صورت دستی و یا مکانیزه قابل انجام است اما باید دقت شود که از خطاهای انسانی و یا اختلاط ماشینی اجتناب شود. اگر از ماشین‌های بذر کار مناسب و طراحی شده برای کرت‌های تحقیقاتی کوچک استفاده می‌شود، مستقیماً بذرها در بستر صاف در عمق ۵ سانتی‌متر کاشته می‌شوند. در صورت کاشت دستی، شیارها را به عمق حدود ۵ سانتی‌متر باز کرده و بذرها با فاصله ۴ سانتی‌متر از یکدیگر کاشته شده و شیارها بسته می‌شوند. شکل ۴ تصویری از کشت نمونه‌های ژنتیکی نخود در مزرعه بانک ژن گیاهی ملی ایران به منظور احیا را نشان می‌دهد.



شکل ۴- کشت نمونه‌های ژنتیکی نخود در مزرعه بانک ژن گیاهی ملی ایران به منظور احیا

1- ICRISAT

2- Accession

اگر چه نخود گیاهی است که در ایران به صورت دیم کشت می‌شود اما احیا نمونه‌های ژنتیکی به صورت طبیعی تحت شرایط آبی انجام می‌شود. از اینرو بلافاصله پس از کاشت زمین آبیاری می‌شود. آبیاری تکمیلی ده روز پس از کشت در صورت عدم وجود بارندگی برای اطمینان از عملکرد کافی بذر انجام می‌شود. گیاهان نباید دچار تنش کمبود آب شوند تا از ریزش گل‌ها یا غلاف‌ها و یا عدم پر شدن غلاف‌ها جلوگیری شود. از آبیاری زیاد در طی فصل رشد اجتناب شود (Street *et al.*, 2008a).

در نخود کابلی، در خاک‌های با بافت سنگین هرگز نباید بلافاصله بعد کشت آبیاری انجام شود زیرا بذره‌های نخود کابلی دارای پوسته بذر نازکی هستند و در مقایسه با نوع دسی سریع‌تر خراب می‌شوند و همچنین بیشتر در معرض پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه قرار دارند. برای افزایش عملکرد انجام دو آبیاری یکی در مرحله شاخه‌دهی و دیگری در مرحله پر شدن غلاف‌ها پیشنهاد می‌شود (Gaur *et al.*, 2010). برای کوددهی از غلظت پایه دی آمونیوم فسفات به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار استفاده می‌شود (Street *et al.*, 2008a).

برای مدیریت علف‌های هرز، در صورتی که کولتیواتور مکانیکی در دسترس باشد، در مراحل اولیه رشد گیاه، بین ردیف‌ها دوبار با کولتیواتور شخم زده می‌شوند. در مراحل بعدی، وجین علف‌های هرز به صورت دستی انجام می‌شود. گیاهان خارج از تیپ و بوته‌هایی که خارج از ردیف‌های کشت رشد کرده‌اند حذف می‌شوند (Street *et al.*, 2008a).

اگر احتمال رخداد بیماری خاصی در منطقه‌ای که احیا در آن صورت می‌گیرد وجود دارد، به عنوان یک استراتژی پیشگیرانه مواد شیمیایی مناسب برای اسپری گیاهان به کار برده می‌شوند. به عنوان مثال، در ایکاردا برای جلوگیری از شیوع بیماری برق زدگی نمونه‌های ژنتیکی نخود در مراحل رشد رویشی و گلدهی هر سه هفته یک‌بار با سموم مناسب اسپری می‌شوند (Street et al., 2008a).

در خصوص گیاه نخود باید از آلودگی مزارع به بیماری‌های خاکزاد که ژرم پلاسما حساسیت زیادی به آنها دارند مراقبت شود. بخش زیادی از مجموعه ژرم پلاسما این گیاه نسبت به بیماری‌های خاکزاد از جمله پژمردگی فوزاریومی حساس هستند که می‌تواند منجر به عدم موفقیت بعضی از نمونه‌های ژنتیکی در تولید بذر شود. پژمردگی فوزاریومی عمده‌ترین محدودیت برای رشد نخود در زمان احیا است و برای برطرف کردن این مشکل احیا نخودهای زراعی معمولاً در زمینی که سولاریزه شده انجام می‌شود. سولاریزیشن^۱ فرآیند گرمادهی به خاک با پوشاندن یک پوشش پلی اتیلنی در تابستان داغ برای کنترل بیماری‌های خاکزاد است. سولاریزیشن حداقل شش هفته در گرم‌ترین زمان سال انجام می‌شود (Stenhouse and Rao, 1998).

مدیریت برداشت و ذخیره‌سازی

زمان بلوغ در گیاه نخود زمانی است که ۹۰ درصد غلاف‌های هر کرت به رنگ زرد و طلایی درآمده‌اند. در این زمان هنگام لرزش غلاف‌ها خشکی با

1- Solarization

صدای جغجغه نشان داده می شود. برداشت به صورت دستی انجام می شود اما کوبیدن توسط ماشین قابل انجام است. با برداشت به موقع و بی درنگ هنگام رسیدن، زوال کیفیت بذر قبل از ذخیره سازی به حداقل می رسد (Stenhouse and Rao, 1998). در صورت تاخیر در برداشت نخود در ماه های گرم خسارت دمای بالا حادث می شود. این امر تأخیر در رسیدگی محصول می تواند به واسطه حساسیت برخی نمونه های ژنتیکی به فتوپریود رخ دهد. به همین ترتیب، تاخیر بی دلیل در کارهای پس از برداشت محصول، بویژه خشک شدن می تواند منجر به قرار گرفتن بذر در دمای شدید و کاهش زیستایی بذر شود. خشک شدن بیش از حد، ممکن است باعث ایجاد مشکلاتی مانند ترک و پارگی پوسته و شکستن بذر در هنگام کوبیدن شود. لذا از خشک شدن بیش از حد بذر قبل از کوبیدن باید خودداری شود. مقدار بذر لازم برای ذخیره سازی از کل نمونه برداشت شده از کرت به روش بالک پس از کوبیده شدن و تمیز شدن برداشته می شود (Humeid *et al.*, 1998).

احیا گونه های وحشی

احیا نمونه های ژنتیکی گونه های وحشی که نیاز به طول روز طولانی و هوای خنک دارد معمولاً در گلخانه و در شرایط کنترل شده انجام می شود. برای این منظور گلدانهای کوچک سفالی یا پلاستیکی (به قطر ۳۰ سانتی متر و عمق ۳۰ سانتی متر) با مخلوط خاک و ماسه اتوکلاو شده به نسبت ۳ به ۱ مناسب می باشند. برای جذب آب و جوانه زنی بهتر، سطح دانه با اسکالپل و یا سمباده های ریز خراش داده شده و به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در آب در دمای محیط غوطه ور

شوند (مفاخری و همکاران، ۱۳۹۹). شکل ۵ تصویری از مراحل جوانه‌دار کردن، کشت و رشد نخودهای وحشی در گلخانه به منظور احیا را نشان می‌دهد.

سطح بذرها با قارچ کش‌ها و حشره کش‌های مناسب پوشانده می‌شود. حداقل ۵۰ دانه برای احیا هر نمونه در نظر گرفته می‌شود و در هر گلدان دو دانه در عمق ۳-۵ سانتی متر کاشته می‌شود. بلافاصله پس از کاشت و بعد از آن بر اساس میزان تبخیر هر ۳ روز یکبار گلدان‌ها آبیاری می‌شوند. در ابتدای بلوغ بذر، هر گیاه با یک کیسه مش سبک پوشانده شده و از پایه گیاه بسته می‌شود. هنگامی که گیاه به مرحله بلوغ رسید، با کیسه پارچه‌ای کل گیاه به صورت دست‌نخورده برداشت می‌شود. با توجه به اینکه ریزش و شکوفائی غلاف در همه گونه‌های وحشی نخود مشاهده می‌شود، در صورت عدم دسترسی به کیسه‌های مش پایش گیاهان و برداشت متناوب غلاف‌های رسیده باید مد نظر قرار گیرد. گونه‌های چند ساله نخود نیازهای خاصی را از نظر شرایط آب و هوایی و خاکی دارند (Kaiser et al., 1997). بنابراین ضرورت دارد قبل از احیا دانش و شناخت بیولوژیکی کافی از یک نمونه ژنتیکی کسب شود. کلیه گونه‌های چند ساله نخود در گلخانه قادر به گلدهی نبوده و در صورت تشکیل گل، گلها می‌ریزند. برخی از گونه‌های وحشی چند ساله ۳-۴ سال زمان نیاز دارند تا گل داده و دانه زنده و زایا تولید نمایند (شکل ۶ و ۷). بذرها برداشت شده از تک تک گیاهان با هم مخلوط شده و به صورت یک نمونه بالک برای ذخیره سازی آماده می‌شود. مراحل پس از برداشت و ذخیره سازی نظیر گیاهان زراعی دنبال می‌شود.



شکل ۵- مراحل جوانه‌دار کردن، کشت و رشد نخودهای وحشی در گلخانه به منظور احیا. سمباده زدن بذر به منظور رفع ممانعت پوسته‌ای (الف)، کشت در ظروف پتری دیش به منظور جوانه زدن بذر (ب)، انتقال دانه رست‌ها به گلدان‌های کوچک (پ)، نگهداری دانه رست‌ها در گلخانه به مدت دو هفته (ت)، انتقال گیاهچه‌ها به گلدان‌های بزرگتر (ث)، نگهداری از گلدان‌ها در گلخانه تا زمان رشد کامل و تشکیل دانه (ج)



شکل ۶- گیاهچه‌های نخود وحشی چند ساله *Cicer spiroceras* که قادر به تکمیل سیکل زندگی خود در گلخانه نبوده و تنها به صورت رویشی به رشد خود ادامه دادند. قسمت‌های مختلف تصویر، سه نمونه ژنتیکی مختلف از این گونه را نشان می‌دهد.



شکل ۷- تصویری از گونه *C. spiroceras* در مزرعه تحقیقاتی بانک ژن گیاهی ملی ایران که پس از سه سال تشکیل نیام داد. فرم بوته (الف)، نمایی نزدیک تر از تصاویر گل این گونه در روی بوته (ب و پ)، نیام‌های رنگدانه‌دار تشکیل شده با فلش روی تصویر مشخص شده است (ت)

ملاحظات احیا نمونه‌های ژنتیکی لوبیا

لوبیا به جنس *Phaseolus* و گونه *P. vulgaris* تعلق دارد. منشا این گیاه مرکز و جنوب آمریکا است و در بیش از ۱۲۰ کشور جهان با سطحی معادل ۲۸/۸ میلیون هکتار کشت می‌شود. (Long et al, 2020). جنس *Phaseolus* شامل ۸۰ گونه زراعی و وحشی است. پنج گونه از این گیاه شامل گونه‌های *P. vulgaris*، *P. dumosus*، *P. coccineus*، *P. acutifolius* و *P. lunatus* زراعی هستند، اما گونه *P. vulgaris* تنها گونه زراعی با بیشترین سطح زیر کشت است. از نزدیک‌ترین گونه‌ها به *P. vulgaris* می‌توان به گونه‌های *P. albescens*، *P. costaricensis*، *P. parvifolius* و *P. persistens* اشاره کرد (Bellucci et al., 2014). جد وحشی لوبیا گونه‌ای با نام مشابه گونه زراعی می‌باشد. در برخی منابع واریته‌ی زراعی *P. vulgaris var. mexicanus*، در برخی منابع زیرگونه‌ای از گونه زراعی *P. vulgaris subsp. arborigineus* و در برخی از گونه *P. arborigineus* به عنوان جد وحشی لوبیا نام برده شده است (OECD, 2016).

بر اساس آخرین آمارها مراکز تحقیقات بین‌المللی CIAT^۱ (۳۶۲۲۱)، USDA^۲ آمریکا (۱۴۶۷۴)، CENARGEN^۳ برزیل (۱۴۰۶۹) و INIFAP^۴ مکزیک (۱۲۷۵۲) بزرگترین کلکسیون‌های منابع ژنتیکی لوبیا جهان را حفاظت

1- The International Center for Tropical Agriculture

2- United States Department of Agriculture

3- Embrapa Genetic Resources & Biotechnology

4- National Institute of Research for Forestry, Agricultural and Livestock

می‌کنند (Debouck, 2014). بانک ژن گیاهی ملی ایران ۲۴۴۱ نمونه ژنتیکی لوبیا را حفاظت می‌کند، این نمونه‌های ژنتیکی از انواع سفید، قرمز، چیتی و انواع رنگ‌های غیر رایج را شامل می‌شود که تنوع زیادی از نظر صفات دانه از جمله شکل، اندازه، رنگ و طرح پوسته در آنها قابل مشاهده است (شکل ۸).

زمانی که ذخیره بذری نمونه‌های لوبیا به زیر ۱۲۰۰ دانه کاهش یابد یا زمانی که درصد جوانه‌زنی در طول آزمایش اولیه بعد از ورود نمونه به بانک ژن و قبل از ذخیره سازی یا در زمان پایش دوره‌ای قدرت حیات بذر (که هر ۵ سال یک‌بار لازم است انجام شود) زیر ۸۵ درصد باشد، نمونه ژنتیکی نیاز به احیا دارد. علاوه بر این زمانی که ذخایر بذری توسط عوامل بیماری‌زا نظیر قارچ‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها آلوده شده باشند احیا ضرورت می‌یابد (Salcedo, 2008).



شکل ۸- تنوع شکل، اندازه رنگ و طرح بذر در نمونه‌های ژنتیکی لوبیا
بانک ژن گیاهی ملی ایران

کنترل دگرگرده‌افشانی و ایزولاسیون

لویای معمولی به دلیل مورفولوژی گل عمدتاً خود گشن است. با این حال، گزارشاتی در زمینه دگرگشتی به ویژه در گونه وحشی یا تشکیل هیبریدهای طبیعی در جمعیت های زراعی نظیر هیبریدهای طبیعی بین *Phaseolus P. coccineus* × *vulgaris* گزارش شده است (OECD, 2016 و Salcedo, 2008). میزان دگرگشتی در جمعیت های وحشی لویا بین ۰ تا ۸۵ درصد گزارش شده است (Ibarra-Perez et al., 1997). زنبورها و حشراتی مانند تریس بعنوان حاملین بالقوه گرده بین بوته‌های لویای کشت شده در مجاورت یکدیگر شناسایی شده‌اند. گزارش های منتشر شده نشان می دهد هنگامی که بوته‌های لویا با فاصله سه تا ده متر از هم کشت شوند، دگرگشتی در آنها به صفر نزدیک می شود (OECD, 2016).

اگرچه دگرگشتی در این گیاه معمول نیست و به صورت پراکنده انجام می شود و بستگی به عواملی نظیر ژنوتیپ لویا، همزمانی گلدهی و شرایط محیطی دارد، اما به منظور حفظ یکپارچگی ژنتیکی لازم است در زمان احیا به ویژه در جمعیت های وحشی اقدامات احتیاطی انجام شود. این میزان برای تولید بذر گواهی شده در کشورهایی مانند کانادا و هند به ترتیب سه و پنج متر (OECD, 2016 و Salcedo, 2008) و در ایران این فاصله ده متر ذکر شده است (قنبری و همکاران، ۱۳۹۷).

فصل کاشت و شرایط آب و هوایی

لوبیا محصول فصل گرم محسوب می‌شود و نسبت به درجه حرارت‌های خیلی بالا یا خیلی پایین حساس است. دمای پایین رشد گیاه را کند می‌کند در حالی که دمای بالا سرعت رشد را تسریع می‌کند. به‌طور کلی، گیاهان در روزهای کوتاه سازگاری بیشتری دارند. این گیاه بسیار حساس به سرما است و برای جوانه زدن باید حداقل دمای متوسط خاک ۱۸-۱۶ درجه سانتی گراد باشد. برای اطمینان از مطلوب‌ترین شرایط رشد، در هنگام انتخاب زمان کاشت باید به طول روز و دما توجه شود. بیشتر انواع لوبیا به فصل رشد ۸۵ تا ۱۲۰ روزه بدون سرما و یخ‌زدگی نیاز دارند.

لوبیای معمولی در دمای ۱۵ تا ۲۷ درجه سانتی گراد به خوبی رشد می‌کند و قادر به تحمل افزایش دما، تا دمای ۲۹/۵ درجه سانتی گراد نیز می‌باشد. اما دمای ۳۵ درجه سانتی گراد یا بالاتر از آن و تنش رطوبت در هنگام تشکیل گل و غلاف منجر به ریزش تعداد زیادی از گل‌ها و غلاف‌های در حال رشد می‌شود. شرایط ایده‌آل رشد برای این گیاه، بارندگی ۳۵۰-۵۰۰ میلی متر در طول فصل رشد همراه با رطوبت نسبی کم برای به حداقل رساندن احتمال وقوع بیماری باکتریایی و قارچی است (Salcedo, 2008). دمای کمتر از ۱۵ درجه سانتی گراد برای رشد این گیاه نامناسب است. صفر فیزیولوژیک لوبیا ۱۰ درجه سانتی گراد و حداقل دمای قابل تحمل برای بوته لوبیا ۵ درجه سانتی گراد است (کامل و همکاران، ۱۳۹۵).

انتخاب و آماده سازی بستر کشت

به طور کلی، خاک مناسب جهت کشت لوبیا خاکهای لومی تا لوم رسی، حاصلخیز، با خواص فیزیکی خوب، pH ۵/۵ تا ۶/۵ و با زهکشی مناسب است. لوبیا حساس به شوری است و تنها می تواند تا غلظت شوری ۲ دسی زیمنس بر متر را تحمل نماید و کاهش عملکرد آن از شوری ۸/۰ دسی زیمنس بر متر شروع می شود (کامل و همکاران، ۱۳۹۵). بهتر است پس از آماده سازی بستر کشت و قبل از کاشت، زمین آبیاری شود تا خاک به طور یکنواخت مرطوب شود. برای اطمینان از گلدی ضرورت دارد ارتفاع منطقه کاشت تا حد ممکن به ارتفاع منطقه ای که نمونه های ژنتیکی از آنجا منشا گرفته اند شبیه باشد و برای جلوگیری از بیماری ها، کشت در سالهای متوالی در یک زمین صورت نگیرد.

برای احیا نمونه ها در گلخانه، توصیه شده است از گلدان های ۸ لیتری (اندازه) به عنوان بستر بذر استفاده شود تا فضای کافی برای رشد ریشه فراهم باشد. در صورت استفاده مجدد از گلدان، هرگونه آلودگی باید زدوده شود، به این منظور گلدان به مدت ۵ دقیقه در محلول سفید کننده ۵٪ خیس و ضد عفونی شده، سپس شستشو و آبکشی و خشک می شوند. کف گلدان ها شن یا ماسه ریخته و سپس با خاک استریل تا حدود ۳-۵ سانتی متر زیر لایه گلدان پر می شوند (Salcedo, 2008).

روش احیا و مدیریت زراعی

برای حفظ یکپارچگی ژنتیکی، در صورت امکان نمونه بذر از منبع اصلی برداشته شود. حداقل مقدار بذر مورد نیاز برای احیا ۸۰ دانه است. حداقل تعداد

بذر همیشه در دسترس نیست، به ویژه در زمانی که ژرم پلاسما اهدایی است در این صورت احیا بر اساس میزان موجودی بذر در دسترس صورت می گیرد. یکی از معدود گونه‌های دگرگشن لوبیا، گونه *Phaseolus coccineus* L. است، که یک دگرگشن اجباری است. برای به دست آوردن بذر کافی و حفظ تنوع، در این گیاه از روش گرده‌افشانی گیاهان با گیاهان خواهری (sib-pollination) استفاده می‌شود (Salcedo, 2008).

برای احیا لوبیا توصیه شده است بذور در کرت‌هایی متشکل از ۳-۵ ردیف به طول ۲-۵ متر کاشته شوند. فاصله ردیف‌ها بهتر است ۴۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شود تا بوته‌ها ردیف‌ها را با سرعت بیشتری پر کرده و مانع رشد علف‌های هرز شوند. فاصله بوته‌ها روی خطوط کشت ۲۰-۳۰ سانتی‌متر و عمق کشت ۳-۵ سانتی‌متر است. در گلخانه، در هر گلدان سه بذر در عمق ۲-۳ سانتی‌متری کاشته می‌شود و بعد از جوانه‌زنی و استقرار تعداد گیاهان به دو عدد تقلیل پیدا می‌کند. برای اطمینان از حفظ تنوع ژنتیکی جمعیت از ۲۵ گلدان (۵۰ گیاه) استفاده می‌شود (Salcedo, 2008). در مزرعه تحقیقاتی بانک ژن گیاهی ملی ایران در کرج به منظور احیا کشت از اوائل اردیبهشت تا اواسط خرداد انجام می‌شود. بذرها در عمق پنج سانتی‌متری با فاصله ردیف‌های ۵۰ سانتی‌متری و فاصله بوته‌ها روی خط ۲۰-۲۵ سانتی‌متری کشت می‌شوند (واعظی و همکاران، ۱۳۹۰).

به منظور جلوگیری از آسیب مکانیکی بذرها، در مزرعه کاشت به صورت دستی انجام می‌شود. برای نمونه‌های با تیپ رشد نامحدود و بالارونده از قیم

استفاده می‌شود (شکل ۹). در کشت گلخانه‌ای بذر در بالای خاک قرار داده می‌شود و با فشار انگشت وارد خاک می‌شود و یا از یک بذر کار برای ایجاد سوراخ برای بذر استفاده می‌شود. پس از کاشت، خاک آبیاری می‌شود تا دانه قادر به جذب رطوبت باشد (Salcedo, 2008).

لوییای معمولی هم به کود شیمیایی و هم به کود آلی پاسخ خوبی می‌دهد. برای تعیین وضعیت حاصلخیزی خاک و نیاز کودی آزمایش خاک باید انجام شود. در زمان نیاز به کود، کودی در زمان کاشت انجام می‌شود. به‌طور کلی، توصیه می‌شود خاک غنی از مواد آلی باشد زیرا جمعیت میکروارگانیسم‌های ساپروفیت افزایش یافته و به کاهش بروز بیماری در محصول کمک می‌کند.

برای استقرار بهتر نمونه‌ها بستر کاشت باید عاری از علف‌های هرز حفظ شوند. مهمترین زمان در این خصوص بین ۱۵-۳۰ روز پس از ظهور گیاهچه‌ها است. اگر محدودیت نیروی کارگری معضل نباشد، حذف علف‌های هرز به صورت دستی قابل انجام است. در غیر اینصورت علف‌کش‌های توصیه شده به ویژه فرمولاسیون‌های قبل از سبز شدن دانه رست، قابل استفاده هستند. ممکن است قبل از اینکه تاج پوشش گیاه کامل زمین را بپوشاند، تا سه بار وجین دستی یا مکانیکی لازم باشد. انجام وجین بعد از گلدهی خودداری شود، یا به حداقل برسد، زیرا موجب از بین رفتن گل‌ها می‌شود (Salcedo, 2008).

دو هفته پس از استقرار گیاهچه یا در مرحله ظهور سه برگچه اول، نسبت به تنک کردن کرت‌ها اقدام شود، در هر موقعیت کاشت فقط یک گیاه باقی گذاشته شود. این کار باید زمانی انجام شود که خاک مرطوب و نرم باشد تا

کشیدن و در آوردن گیاهان آسان تر باشد. در حین انجام این کار باید مراقبت شود تا شاخه ها شکسته نشوند و به سیستم ریشه ای گیاهچه های باقی مانده آسیب نرسد. بهتر است تنک کردن در اوایل صبح یا اواخر بعد از ظهر که هوا خنک تر است انجام شود تا تنش وارد شده به گیاهان کاهش یابد.



شکل ۹- کشت نمونه های ژنتیکی لوبیا در مزرعه تحقیقاتی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر به منظور احیا (الف) و استفاده از قیم برای احیا نمونه های ژنتیکی لوبیا بالارونده در مزرعه بانک ژن گیاهی آلمان (IPK)

برای داشتن گیاهانی سالم و با رشد و نمو مناسب، آبیاری کافی ضرورت دارد. در جاهایی که از سیستم آبیاری بارانی استفاده می‌شود، در هنگام گلدی از آبیاری زیاد خودداری شود تا ریزش گل‌ها کمتر حادث شود (Salcedo, 2008). در صورت استفاده از آبیاری نشتی، مقدار آب مورد نیاز بستگی به بافت و ساختمان خاک و شرایط آب و هوایی دارد. در خاک‌های با بافت سبک آبیاری هر ۳-۴ روز یکبار (کامل و همکاران، ۱۳۹۵) و در خاک‌های با بافت سنگین آبیاری یکبار در هفته و به مدت ۲ ساعت لازم است انجام شود. میزان آبیاری در زمان گلدی بهتر است بیشتر شود (Salcedo, 2008).

به‌طور کلی برای جلوگیری از مشکلات بیماری، توصیه می‌شود که کشت لوبیا بعد از غلات مانند ذرت، گندم یا سورگوم صورت پذیرد، و از کاشت لوبیا بعد از سویا یا آفتابگردان خودداری شود. هر هفته مزارع و گلخانه‌ها از نظر آفات حشرات بررسی شوند. در گلخانه اطمینان حاصل شود که خاک یا محیط رشد قبل از کاشت به درستی استریل شده است و از آبیاری بیش از حد گیاهان خودداری شود (Salcedo, 2008).

مدیریت برداشت و ذخیره‌سازی

برداشت باید قبل از شکوفا شدن و خرد شدن غلاف‌ها، انجام شود. زمان رسیدن غلاف‌ها را می‌توان با توجه به رنگ غلاف قهوه‌ای یا با ایجاد صدای جغجغه ای غلاف‌ها در هنگام تکان دادن آنها تشخیص داد. برداشت باید به موقع انجام شود تا از آسیب تنش‌های محیطی و آفات جلوگیری شود. در نمونه‌های ژنتیکی که رسیدن غلاف‌ها همزمان نیست باید برداشت زمانی انجام شود که ۶۵ تا ۷۵ درصد غلاف‌ها رسیده باشند (کامل و همکاران، ۱۳۹۵). برداشت هر کرت

به صورت دستی با چیدن غلاف‌های بالغ از گیاهان انجام می‌شود و غلاف‌های برداشت شده در پاکت‌های کاغذی یا کیسه‌های پارچه‌ای از جنس چیت که هم داخل و هم بیرون آنها برچسب زده شده‌اند برای خشک شدن قرار داده می‌شوند (شکل ۱۰). این مرحله از خشک شدن در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۳۵ درصد صورت می‌گیرد. کوبیدن غلاف‌ها به صورت دستی انجام می‌شود تا به جنین دانه آسیب نرسد. این کار ممکن است از طریق باز کردن تک تک غلاف‌ها به صورت جداگانه با دست یا از طریق ضربه زدن روی کیسه‌های پارچه حاوی غلاف‌ها با یک میله کوچک انجام شود. بذره‌های آسیب دیده یا نابالغ و مواد گیاهی خارجی تمیز و جدا می‌شود. با مقایسه رنگ، شکل و وزن صد دانه بذره‌های احیا شده با نمونه اصلی هویت نمونه احیا شده تأیید می‌شود. حداقل ۱۲۲۰ بذر که حداقل تعداد لازم برای ذخیره سازی هر نمونه ژنتیکی است، شمرده شده و در اتاق خشک کن (شکل ۱۱) با درجه حرارت ۲۰ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۲۰ درصد قرار داده می‌شوند تا رطوبت بذرها به رطوبت نزدیک به ۹ درصد برسد (Salcedo, 2008).

قبل از ذخیره سازی بذر آزمایشات معمول مانند آزمون قوه نامیه با کاربرد ۵۰ دانه و تست‌های سلامت بذر با کاربرد ۲۰۰ دانه انجام می‌شود. تا زمان آماده شدن نتایج آزمایشات زنده ماندن و سلامت، بذرها در ظروف پلاستیکی در دمای ۵ درجه سانتی گراد نگهداری می‌شوند. پس از تأیید آزمایشات، قوه‌نامیه بالای ۸۵ درصد و عاری بودن نمونه از آلودگی‌های قارچی، باکتریایی و ویروسی، نمونه‌ها در اتاق‌های خشک کن با درجه حرارت ۱۵ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۱۰ درصد جایی که بذرها به سطح رطوبت نزدیک به ۶ درصد می‌رسند، قرار داده

می‌شوند. سپس در ظروف شیشه‌ای حاوی سیلیکاژل (شکل ۱۲) و یا در شرایط خلا و در فویل‌های آلومینیومی بسته‌بندی می‌شوند و به سردخانه منتقل می‌شوند.

احیا گونه‌های وحشی لویا

جمعیت‌های گونه‌های وحشی لویا به‌طور کلی دانه‌های کمتری دارند که در بعضی موارد هنوز دارای سطح خواب قابل توجهی هستند یا برای جوانه‌زنی به شرایط خاصی احتیاج دارند. قبل از کشت بذرها ضد عفونی می‌شوند. به این منظور بذرها به مدت ۱ دقیقه در الکل ۷۰ درصد قرار داده می‌شوند، سپس به مدت ۱۰ دقیقه در قارچ کش و پس از آن به مدت ۵ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد قرار داده می‌شوند. بذرها را روی کاغذ صافی در ظروف پتری، در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد با فتوپریود ۸ ساعت روشنایی و ۱۶ ساعت تاریکی در ژرمیناتور قرار داده می‌شوند. بعد از ظهور ریشه‌چه و ساقه‌چه، گیاهچه‌ها به گلدان‌های پلاستیکی حاوی خاک استریل که به صورت سبکی کوددهی شده باشد انتقال می‌یابند. بسته به عادات رشد نمونه‌ها و اینکه تیپ بالارونده و یا خوابیده دارند از قیم استفاده می‌شود و یا فاصله مناسب بین گیاهان در نظر گرفته می‌شود تا شرایط رشد خوب، تسهیل شود. گلدان‌ها با فاصله ۲۰-۳۰ سانتی متر از یکدیگر قرار داده می‌شوند. برخی از نمونه‌های وحشی غلاف‌های شکوفا دارند. بنابراین برای جلوگیری از اتلاف بذرها، نظارت روزانه باید انجام شود تا بذرها قبل از شکوفا شدن غلاف‌ها برداشت شوند. در مدیریت پس از برداشت کلیه موارد مطرح شده برای نمونه‌های زراعی باید رعایت شود (Salcedo, 2008).



شکل ۱۰- اتاق پیش‌خشک‌کن و ذخیره‌سازی گونی‌های لوبیای برداشت شده از مزرعه در بانک ژن گیاهی آلمان (IPK)



شکل ۱۱- اتاق خشک‌کن در بانک ژن گیاهی آلمان (IPK)، نمونه‌ها پس از کوبیده شدن و قبل از ذخیره‌سازی در سردخانه به منظور رسیدن به سطح رطوبت مطلوب قبل از ذخیره‌سازی، در این محیط قرار داده می‌شوند.



شکل ۱۲- ظروف شیشه‌ای ذخیره‌سازی بذر لوبیا و وجود سیلیکا ژل درون ظروف در سردخانه فعال در بانک ژن گیاهی آلمان (IPK)

ملاحظات احیا نمونه‌های ژنتیکی عدس

عدس در سطحی معادل ۴/۴ میلیون هکتار در سطح جهان و عمدتاً در زمین‌های حاشیه‌ای و به صورت دیم کشت می‌شود. از نظر سطح زیر کشت و تولید این گیاه هندوستان اولین رتبه را دارد. عدس سومین لگوم تغذیه‌ای مهم در جهان محسوب می‌شود و قدیمی‌ترین لگوم تغذیه‌ای است که اهلی شده است (Malhotra et al., 2019).

بر اساس آخرین آمارها منابع ژنتیکی عدس جهان بالغ بر ۴۶۰۰۰ نمونه ژنتیکی است که در ۴۰ بانک ژن در سراسر دنیا نگهداری می‌شوند. ایکاردا با ۱۳۹۰۷ نمونه ژنتیکی عدس زراعی و ۶۰۳ نمونه ژنتیکی از وحشی عدس بزرگترین کلکسیون این گیاه دارد. در این کلکسیون بین‌المللی بیشترین جمع‌آوری برای منابع ژنتیکی عدس از غرب آسیا، ناحیه هلال حاصل‌خیز انجام شده است. بانک‌های ژن استرالیا با داشتن ۵۲۵۴ و بانک ژن گیاهی ملی ایران با ۳۰۰۰ نمونه ژنتیکی به ترتیب رتبه‌های دوم و سوم را از نظر منابع ژنتیکی این گیاه دارند. بانک‌های ژن USDA، روسیه و هند به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار دارند (Malhotra et al., 2019).

عدس به جنس *lentil* گونه *L. culinaris* تعلق دارد. این گونه دارای دو زیرگونه عدس زراعی *L. culinaris ssp. Culinaris* (شکل ۱۳) و جد وحشی آن یعنی زیرگونه *L. culinaris ssp. orientalis* می‌باشد. علاوه بر این گونه، پنج گونه شامل *L. tomentosus*، *L. nigricans*، *L. ervoides*، *L. odemensis* و *L. lamottei* برای عدس تعریف شده است. البته برخی گیاه‌شناسان گونه‌های *L. tomentosus* و *L. odemensis* را به عنوان زیرگونه‌های دیگری از *L. culinaris*

عنوان نمودند و برای عدس چهار گونه ذکر نموده‌اند (Ferguson et al., 2000). تمامی زیرگونه‌های گونه *L. Culinaris* حوض ژنی اولیه این گیاه محسوب می‌شوند. گونه‌های *L. ervoides* و *L. nigricans* و *L. lamottei* حوض‌های ژنی ثانویه و ثالثیه را تشکیل می‌دهند (Street et al., 2008c).

تنوع بسیار زیادی در صفات مورفولوژیکی تعداد برگچه در برگ، ویژگی‌های گل و خوشه (شکل ۱۳)، اندازه، رنگ و طرح بذر (شکل ۱۴)، رنگ لپه، وزن ۱۰۰ دانه، و صفات زراعی و فنولوژیکی در منابع ژنتیکی عدس وجود دارد (پوراسماعیل و همکاران، ۱۳۹۱ و Pouresmael et al., 2018).



شکل ۱۳- تنوع طول راکیس و تعداد و شکل برگچه (الف)، رنگ گل، طول دم گل و تعداد گل در خوشه و وجود یا عدم وجود زائده داسی شکل (ب) در نمونه‌های عدس وحشی بانک ژن گیاهی ملی ایران (پوراسماعیل و همکاران، ۱۳۹۱)



شکل ۱۴- تنوع اندازه دانه، رنگ و طرح پوسته بذر در منابع ژنتیکی عدس بانک ژن گیاهی ملی ایران (جعفرآقایی، ۱۳۸۰)

زمانی که ذخیره بذری نمونه‌های عدس به زیر ۱۰۰۰ دانه کاهش یابد یا زمانی که درصد جوانه‌زنی در طول آزمایش اولیه بعد از ورود نمونه به بانک ژن و قبل از ذخیره سازی یا در زمان پایش دوره ای قدرت حیات بذر زیر ۹۰ درصد باشد، نمونه ژنتیکی نیاز به احیا دارد (Street et al., 2008c). همه گونه های عدس خودگشن هستند و لذا احیا نمونه‌های ژنتیکی بدون در نظر گرفتن ملاحظات خاصی قابل انجام است.

فصل کاشت و شرایط آب و هوایی

عدس نسبت به گرما و خشکسالی مقاوم است و به بارندگی کم تا متوسط (۳۰۰-۴۵۰ میلی متر) با یک دوره خشک پایدار در فصل بهار برای اطمینان از رسیدن نیاز دارد. احیا این گیاه در طی فصل بارانی انجام می‌شود که در محیط های نوع مدیترانه‌ای، این زمان مصادف با زمستان است. پس از اولین باران قابل توجه در فصل و زمانی که احتمال می رود بارندگی های بعدی وجود دارد نسبت

به کاشت این گیاه مبادرت می‌شود. در محیط‌هایی که فصل بارندگی با آب و هوای گرم و مرطوب همزمان است برای کاهش فشار آفات و بیماری‌ها، در فصل پس از بارندگی، که دما و رطوبت پایین است، گیاه کاشته می‌شود. روزهای کوتاه فصل پس از بارندگی همچنین امکان گلدهی و تشکیل دانه را در نمونه‌های ژنتیکی حساس به نور فراهم می‌کند (Street et al., 2008c). در ایران، کاشت بهاره این گیاه امکان‌پذیر است و برای احیا کاشت بهاره در اواخر اسفند ماه انجام می‌شود.

انتخاب و آماده سازی بستر کشت

در صورت امکان برای احیا از خاکهای سنگین، آبرفتی و نرمال با pH ۷/۵ استفاده شود. شخم عمیق و برگرداندن خاک و کلوخه شکنی برای فراهم سازی یک بستر صاف و یک‌دست برای کاشت عدس اهمیت ویژه‌ای دارد. برای اطمینان ذخیره مناسب رطوبت خاک در زمان کاشت، خاک باید در زمان کاشت زهکشی خوبی داشته باشد و عاری از علف‌های هرز باشد. پژمردگی فوزاریومی یک عامل محدودکننده اصلی در زمان احیا عدس است. کنترل این بیماری از طریق سولاریزاسیون خاک مزرعه و یا تناوب کشت به عنوان مثال؛ غلات - حبوبات - آیش راهکارهای پیشنهادی برای فائق آمدن بر این مشکل می‌باشند (Street et al., 2008c).

روش احیا و مدیریت زراعی

برای احیا، بذرها ابتدا عدس ابتدا بذرها با قارچ کش و حشره کش مناسب تیمار می‌شوند. برای جمعیت‌هایی که تنوع زیادی دارند مانند توده‌های بومی، برای

احیا از ۸۰۰ دانه کاشته شده در چهار ردیف (۲۰۰ دانه در هر ردیف) به طول ۴ متر استفاده می‌شود. برای مواد پیشرفته اصلاحی که خالص هستند، حداقل ۳۰۰ گرم یا ۸۰۰۰-۱۲۰۰۰ بذر برای تامین مقادیر کافی بذر کاشته می‌شود. حداقل ۴۵ سانتی‌متر بین ردیف‌ها فاصله باشد و فاصله کرت‌های آزمایشی با یکدیگر ۹۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شود. اگر از ماشین‌های بذر کار مناسب و طراحی شده برای کرت‌های تحقیقاتی کوچک استفاده می‌شود، مستقیماً بذرها در بستر صاف بذرها در فاصله ۲/۵-۳ سانتی‌متری و در عمق ۳ سانتی‌متر کاشته می‌شوند. در صورت کاشت دستی، شیارها را به عمق حدود ۳ سانتی‌متر باز کرده و بذرها با فاصله ۳ سانتی‌متر از یکدیگر کاشته می‌شوند (شکل ۱۵).



شکل ۱۵- کشت نمونه‌های ژنتیکی عدس در مزرعه بانک ژن گیاهی ملی ایران به منظور احیا

برای مدیریت علف‌های هرز، علاوه بر امکان استفاده از علف‌کش‌های قبل از استقرار، در صورتی که کولتیواتور مکانیکی در دسترس باشد، در مراحل اولیه رشد گیاه، بین ردیف‌ها را دوبار با کولتیواتور شخم زده می‌شود. در مراحل بعدی وجین علف‌های هرز به صورت دستی انجام می‌شود. گیاهان خارج از تیپ و بوته‌هایی که خارج از ردیف‌های کشت رشد کرده‌اند حذف می‌شوند.

برای کوددهی از غلظت پایه دی آمونیوم فسفات به میزان ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار استفاده می‌شود. برای اطمینان از جوانه‌زنی مناسب نمونه‌های ژنتیکی قبل از کاشت و پس از کاشت زمین آبیاری می‌شود. آبیاری تکمیلی در صورت لزوم برای اطمینان از تولید بذر کافی اعمال می‌شود. گیاهان نباید دچار تنش خشکی شوند تا از ریزش گل‌ها یا غلاف‌ها و یا عدم پر شدن غلاف‌ها جلوگیری شود (Street et al., 2008c).

مدیریت برداشت و ذخیره‌سازی

هنگامی که برگ‌های قدیمی زرد می‌شوند و می‌ریزند نشان دهنده بلوغ است و هنگام خشک شدن غلاف‌ها برداشت می‌شوند. در این زمان هنگام لرزش غلاف‌ها خشکی با صدای جغجغه نشان داده می‌شود. برداشت را می‌توان به صورت دستی و یا توسط دستگاهی که برای قطعات آزمایشی طراحی شده است انجام داد. برای بهبود قابلیت برداشت، می‌توان از مواد خشک‌کن استفاده کرد. استفاده از این مواد موجب می‌شود تا بلوغ کاملاً یکنواخت شود، غلاف‌های دیرتر تشکیل شده نیز رسیده، علف‌های هرز سبز از بین رفته و برداشت زودتر انجام شود. بهترین زمان استفاده از مواد خشک‌کن زمانی است که محصول شروع به زرد شدن می‌کند. بسته به شرایط آب و هوایی، ۵-۱۰ روز پس از استفاده از

مواد خشک کن، محصول آماده برداشت خواهد بود (Street et al., 2008c). پس از برداشت بذرها با غربال‌های مکانیکی و یا به روش دستی و با استفاده از الک‌های مناسب، به روشی که کمترین آسیب به نمونه‌ها وارد شود پاک شده و برای ذخیره‌سازی آماده می‌شوند.

احیا گونه‌های وحشی

برای احیا نمونه‌های وحشی تحت شرایط گلخانه گلدان‌های کوچک سفالی یا پلاستیکی (به قطر ۳۰ سانتی متر و عمق ۳۰ سانتی متر) با مخلوط خاک و ماسه اتوکلاو شده به نسبت ۳ به ۱ مناسب می‌باشند (شکل ۱۶). برای جذب آب و جوانه‌زنی بهتر، سطح دانه با اسکالپل و یا سمباده‌های ریز خراش داده شده و به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در آب در دمای محیط غوطه‌ور می‌شوند (پوراسماعیل و همکاران، ۱۳۹۱). حداقل ۵۰ دانه برای احیا هر نمونه در نظر گرفته می‌شود و در هر گلدان دو دانه در عمق ۲ سانتی متر کاشته می‌شود. بلافاصله پس از کاشت و بعد از آن هر ۵-۶ روز یک‌بار گلدان‌ها آبیاری می‌شوند. در ابتدای بلوغ بذر، هر گیاه با یک کیسه مش سبک پوشانده شده و از پایه گیاه بسته می‌شود (شکل ۱۷). هنگامی که گیاه به مرحله بلوغ رسید، با کیسه پارچه‌ای کل گیاه به صورت دست نخورده برداشت می‌شود. و مراحل پس از برداشت و ذخیره‌سازی نظیر گیاهان زراعی دنبال می‌شود (Street et al., 2008c). با توجه به اینکه ریزش و شکوفائی غلاف در همه گونه‌های وحشی عدس مشاهده می‌شود، در صورت عدم دسترسی به کیسه‌های مش پایش گیاهان و برداشت متناوب غلاف‌های رسیده باید مد نظر قرار گیرد.



شکل ۱۶- گلدان‌های کشت شده عدس‌های وحشی در گلخانه
بانک ژن گیاهی ملی ایران به منظور احیا



شکل ۱۷- نحوه پوشش‌دهی بوته
به وسیله کیسه‌های مش برای
جلوگیری از ریزش بذرهای احیا شده
در گلخانه

ملاحظات احیا نمونه‌های ژنتیکی لوبیا چشم‌بلبلی

لوبیا چشم‌بلبلی از بقولات یک‌ساله با رشد سریع (دوره رشد ۹۰ تا ۱۲۰ روز) است. همزیستی این گیاه با باکتری‌های ریزوبیوم موجب تثبیت ۷۰ تا ۳۵۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن اتمسفری می‌گردد که حدود ۴۰ تا ۸۰ کیلوگرم از این مقدار به عنوان منبع طبیعی نیتروژن معدنی در خاک رسوب کرده و به سلامت خاک کمک می‌کند (Nkhoma et al., 2020). منشا این گیاه آفریقا است و یکی از محصولات اصلی در اکثر کشورهای آفریقایی است.

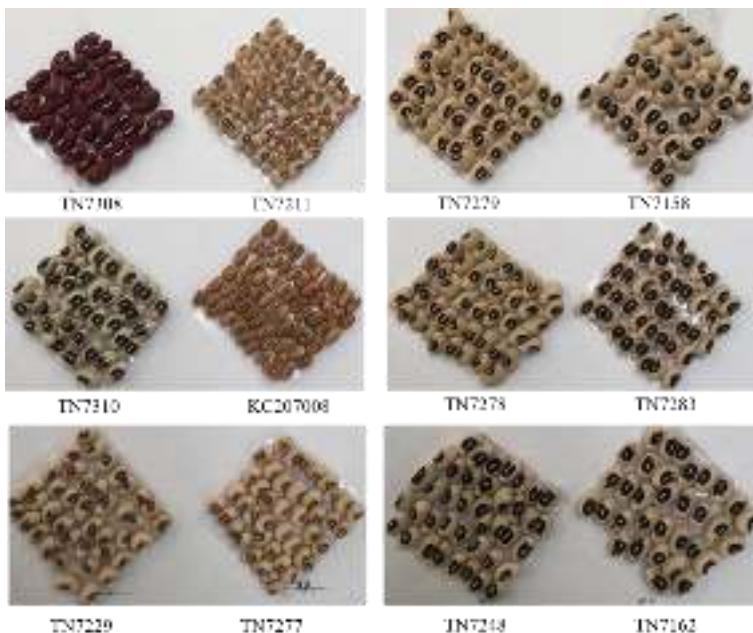
لوبیا چشم‌بلبلی به جنس *Vigna*، زیر جنس *Vigna* و گونه *V. unguiculata* تعلق دارد. جنس *Vigna* شامل پنج زیر جنس *Ceratotropis*، *Haydonia*، *Plectrotropis*، *Lasiospron* و *Vigna* و بیش از صد گونه وحشی است. در این جنس ده گیاه زراعی از سه زیر جنس *Ceratotropis*، *Plectrotropis* و *Vigna* اهلی شده است و لذا جنسی است که از نظر زراعی خیلی مهم است. گونه *V. unguiculata* متشکل از چهار زیر گونه *stenophylla*، *unguiculata*، *dekindtiana* و *tenuis* می‌باشد. زیر گونه *unguiculata* تنها زیر گونه زراعی بوده و سه زیر گونه دیگر خویشاوندان وحشی این گونه می‌باشند (Takahashi et al., 2016). زیر گونه *unguiculata* خود به چهار گروه کولتیواری (CV-gr) *unguiculata*، *Biflora*، *Sesquipedalis* و *Textilis* تقسیم می‌شود. گروه کولتیواری *unguiculata* متنوع‌ترین گروه می‌باشد (Oyatomi et al., 2016).

بالغ بر ۳۶۳۸۳ نمونه ژنتیکی لوبیا چشم‌بلبلی در بانک‌های ژن جهانی نگهداری می‌شود. موسسه بین‌المللی کشاورزی در مناطق گرمسیری^۱ با ۱۵۲۷۶

نمونه ژنتیکی زراعی و ۱۸۱۸ نمونه ژنتیکی وحشی بیشترین تعداد منابع ژنتیکی این گیاه را حفاظت می کند. بعد از آن بانک ژن موسسه تحقیقات کشاورزی آمریکا، دانشگاه کالیفرنیا و بانک ژن روسیه به ترتیب با ۸۰۴۳، ۶۰۰۰ و ۱۹۴۵ اصلی ترین بانک های ژن این گیاه را دارا هستند (Fatokun et al., 2018). بانک ژن گیاهی ملی ایران تعداد ۴۰۰ نمونه ژنتیکی لوبیا چشم بلبلی جمع آوری شده از مناطق مختلف کشور را حفاظت می نماید، این نمونه های ژنتیکی علاوه بر تنوع از نظر صفاتی نظیر رنگ گل (شکل ۱۸) و رنگ و بافت بذر (شکل ۱۹)، از نظر صفاتی نظیر زیست توده، تعداد غلاف در بوته، تعداد دانه در غلاف، طول غلاف و وزن صد دانه نیز دارای تنوع قابل ملاحظه ای هستند (پوراسماعیل و همکاران، ۱۴۰۰).



شکل ۱۸- تنوع رنگ گل گونه زراعی لوبیا چشم بلبلی در نمونه های ژنتیکی بانک ژن گیاهی ملی ایران



شکل ۱۹- تنوع اندازه، شکل، رنگ و چشم بذر در نمونه‌های ژنتیکی لوبیا چشم‌بلبلی بانک ژن گیاهی ملی ایران (پوراسماعیل و همکاران، ۱۴۰۰)

زمانی که ذخیره بذری نمونه‌های لوبیا چشم‌بلبلی کافی نباشد، یا هنگامی که در زمان پایش دوره‌ای قدرت حیات بذر درصد جوانه‌زنی در کلکسیون‌های پایه یا فعال زیر ۷۵ درصد باشد نمونه ژنتیکی نیاز به احیا دارد (Dumet *et al.*, 2008).

کنترل دگرگرده افشانی و ایزولاسیون

لوبیا چشم‌بلبلی تا حد زیادی خود گشن محسوب می‌شود اما تا ۲ درصد دگرگشتی در این گیاه گزارش شده است. میزان دگرگشتی بسته به زیرگونه متفاوت است و در جمعیت‌های وحشی این گیاه دگرگشتی تا ۹/۵ درصد نیز

گزارش شده است (Mens et al., 2017). و توصیه شده است عمل احیا در شرایط دور از حشرات^۱ انجام شود، اما معمولاً این کار در مقیاس های احیا مورد نیاز غیرعملی است. در صورت وجود امکان ایزولاسیون در هنگام احیا قفس های گرده افشانی در مرحله شروع تشکیل جوانه های گل روی کرت ها قرار داده می شوند و در هر قفس ۵۰ نمونه ژنتیکی وجود دارد. از توری های با منفذ ۳ میلی متر یا کوچک تر برای پوشاندن قفس ها استفاده می شود. در روش دیگر، از فاصله فضایی با فاصله حداقل ۲۰ متر، و ترجیحاً ۵۰ متر، بین نمونه های ژنتیکی استفاده می شود (Dumet et al., 2008).

فصل کاشت و شرایط آب و هوایی

گونه های زراعی لوبیا چشم بلبلی با شرایط گرم و خشک سازگار هستند. کشت این محصول به دلیل توانایی زنده ماندن در خاکهای با حاصلخیزی کم و تحمل خاکهای قلیایی، در اکثر مناطق موفقیت آمیز است. مقاومت لوبیا چشم بلبلی به خاک های با حاصلخیزی پائین به علت قدرت تثبیت نیتروژن بالای آن است. لوبیا چشم بلبلی برای رشد و نمو به دمای بالای ۱۸ درجه سانتی گراد نیاز دارد و در دمای بین ۲۲ تا ۳۰ درجه سانتی گراد بهترین رشد را دارد (Dumet et al., 2008). عملکرد این گیاه بستگی به میزان تشعشع و دما طی مراحل رشد زایشی دارد. دمای زیر ۲۴ درجه سانتی گراد و دمای بالای ۳۵ درجه سانتی گراد موجب کاهش تعداد دانه و غلاف در این گیاه می شود. بیشترین نیاز حرارتی این گیاه طی دوره گلدهی و رسیدگی دانه است و رسیدگی دانه ها در دمای کمتر از ۲۴ درجه

1- insect-proof conditions

سانتی گراد به خوبی انجام نمی شود (سخاوت و همکاران، ۱۳۹۷). این گیاه شرایط بیش از حد مرطوب، سرما یا یخبندان را نمی تواند تحمل کند. این گیاه را می توان در فصول بارانی یا در فصول خشک با اعمال آبیاری کاشت. به طور کلی محیطی که بیشترین شباهت را به سایت جمع آوری دارد برای احیا این گیاه مطلوب ارزیابی می شود (Dumet *et al.*, 2008).

انتخاب و آماده سازی بستر کشت

لویا چشم بلبلی به عنوان یک گونه زراعی فراموش شده و یا کم بهره برداری شده محسوب می شود و اطلاعات محدودی در مورد روشهای زراعی و کشت بذر آن وجود دارد (Mfeka *et al.*, 2019). اگرچه لویا چشم بلبلی خاک های اسیدی و قلیایی را می تواند تحمل نماید، اما در زمین مسطح یا با شیب ملایم، خاک های لومی شنی با pH نزدیک به خنثی، بازه کشی مناسب بهترین رشد را دارد. قبل از کاشت، عملیات زراعی شامل شخم، از بین بردن کلوخه ها و ایجاد جوی و پشته ها انجام می شود (Dumet *et al.*, 2008). لویا چشم بلبلی حساس به شوری است و آستانه تحمل آن $\frac{1}{3}$ دسی زیمنس بر متر است لذا در زمان آبیاری باید به این موضوع توجه داشت که EC آب آبیاری از این میزان پایین تر باشد (سخاوت و همکاران، ۱۳۹۷).

روش احیا و مدیریت زراعی

برای احیا هر نمونه لویا چشم بلبلی دو ردیف چهارمتری با کاربرد ۸۰ دانه (حداقل ۵۰ دانه)، ۴۰ دانه در هر ردیف و ۷۵ سانتی متر بین ردیف کاشته می شود. فاصله بوته ها ۲۰ سانتی متر و عمق کاشت ۲-۳ سانتی متر در نظر گرفته

می‌شود و در هر سوراخ دو بذر کاشته می‌شود. بذرها قبل از کاشت با قارچ کش مناسب (به عنوان مثال مانکوزب) تیمار می‌شوند. روش کاشت معمول و مرسوم این گیاه کاشت مستقیم است. اما در مواردی که نمونه‌های ژنتیکی تعداد بذر کمی دارند یا جوانه‌زنی نمونه ژنتیکی پایین است، بذرها در انکوباتور جوانه دار شده و در گلدان کاشته می‌شوند و سپس گیاهان کوچک (حداقل ۵-۶ گره در ساقه اصلی) به مزرعه منتقل می‌شوند (Dumet et al., 2008). مفکا و همکاران (Mfeka et al., 2019) گزارش کردند اندازه دانه سرعت جوانه‌زنی نمونه‌های لوبیا چشم‌بلبلی را تحت تاثیر قرار می‌دهد و در خاک‌های لومی ماسه‌ای جوانه‌زنی سریع‌تر از خاک‌های رسی ماسه‌ای انجام می‌شود.

در بانک ژن گیاهی آلمان (IPK) احیا این گیاه در گلخانه انجام می‌شود، حداقل ۸۰ عدد بذر برای احیا هر نمونه ژنتیکی کشت می‌شود (شکل ۲۰) و در صورتی که موجودی بذر کافی نباشد تعداد کمتر بذر و یا از احیاهای مختلف استفاده می‌شود.



شکل ۲۰- کشت لوبیا چشم‌بلبلی در گلدان و گلخانه در بانک ژن آلمان (IPK) به منظور احیا

به طور متوسط، ممکن است در فصل رشد دو یا سه بار وجین علف‌های هرز لازم باشد. نظیر سایر گیاهان میزان آب مورد نیاز این گیاه بستگی به شرایط آب و هوایی و بافت خاک دارد. در فصل خشک آبیاری دو بار در هفته هر بار ۲ تا ۴ ساعت مورد نیاز است (Dumet et al., 2008). مهم‌ترین آبیاری در این گیاه، آبیاری پس از کاشت و آبیاری در مرحله پر شدن دانه است (سخت و همکاران، ۱۳۹۷). لویاچشم‌بلبلی نیازی به کود ازته زیاد ندارد. چرا که مانند سایر حبوبات، این گیاه رابطه همزیستی با یک باکتری خاص‌های ریزوبیوم ایجاد می‌کند و نیتروژن مورد نیاز خود را از طریق تثبیت نیتروژن اتمسفری تامین می‌کند. اگرچه ریزوبیوم همزیست با لویاچشم‌بلبلی به طور معمول در همه مناطق گسترده است، اما در مناطقی که این باکتری وجود ندارد پوشش‌دهی بذرها با ریزوبیوم اختصاصی این گیاه مفید خواهد بود. برای رفع نیاز گیاه به فسفات، کود فسفاته مانند دی آمونیوم فسفات و سوپر فسفات ساده (SSP) به میزان ۶۰ کیلوگرم در هکتار و یا سوپر فسفات تریپل (TSP) به میزان ۲۵ کیلوگرم در هکتار مورد نیاز می‌باشد (Dumet et al., 2008).

مدیریت برداشت و ذخیره‌سازی

بسته به زمان بلوغ گیاهان، زمان تقریبی برداشت در مزرعه ۶۰ تا ۱۲۰ روز پس از کاشت است. برداشت زمانی که ۹۵ درصد غلاف‌های یک نمونه قهوه‌ای مایل به زرد شد به صورت دستی صورت می‌گیرد (شکل ۱۹). زمانی که رسیدن غلاف‌ها در یک نمونه ژنتیکی به صورت همزمان نباشد ضرورت دارد برای جلوگیری از اتلاف بذرها به دلیل شکوفا بودن نیم‌های این گیاه، برداشت در چندین مرحله انجام شود. برای اطمینان از حفظ یکپارچگی ژنتیکی نمونه کشت

شده، بذره‌های همه گیاهان کشت شده برداشت می‌شود. به عنوان یک اصل کلی، تعداد بذر مساوی از بیشترین تعداد ممکن از گیاهان مادری برداشته می‌شود تا اندازه موثر جمعیت (Ne) تا حد ممکن بالا نگه داشته شود (Dumet et al., 2008).



شکل ۲۱- کشت لوبیا چشم بلبلی در مزرعه بانک ژن گیاهی ملی ایران به منظور احیا، غلاف‌های زرد رنگ آماده بودن کرت‌ها برای برداشت را نشان می‌دهد

در صورت امکان، غلاف‌ها در گلخانه در زیر سایه خشک می‌شوند و سپس به صورت دستی یا با استفاده از دستگاه خرمن کوب کوبیده می‌شوند. بسته به مقدار بذر، بذرها با دمنده یا با دست تمیز می‌شوند. پس از انطباق هویت نمونه ژنتیکی احیا شده با نمونه اصلی، بذرها در اتاق خشک‌کن با رطوبت نسبی ۱۰-۱۵ درصد و دمای ۱۶-۱۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ تا ۱۰ هفته قرار داده می‌شوند تا به میزان رطوبت ۷-۸ درصد برسند. تست قوه‌نامه روی ۲۰ عدد بذر از هر نمونه روی کاغذ جوانه‌زنی در ظروف پلاستیکی در دمای ۳۰-۲۰ درجه سانتی‌گراد صورت می‌گیرد و سپس بذرها برای ذخیره‌سازی در سردخانه‌های پایه و فعال آماده می‌شوند.

ملاحظات احیا نمونه‌های ژنتیکی ماش

ماش یکی از مهمترین حبوبات خوراکی است که در بیش از ۶ میلیون هکتار در سراسر جهان (حدود ۸/۵٪ از سطح زیر کشت جهانی حبوبات) رشد می‌کند. کشورهای چین، هند، بنگلادش، پاکستان و برخی از کشورهای جنوب شرقی آسیا بیشترین سطح زیر کشت این گیاه را دارند (Hou et al., 2019). ماش با تثبیت سالانه ۵۸ تا ۱۰۹ کیلوگرم در هکتار نیتروژن جوی در غنی ساختن و باروری خاک نقش دارد. بعلاوه به صورت یک گیاه پوششی در جلوگیری از فرسایش خاک نقش دارد.

ماش به جنس *Vigna* و زیرجنس *Ceratotropis* و گونه *V. radiata* تعلق دارد (Takahashi et al., 2016). سه زیرگونه برای جنس ماش تعریف شده است، زیرگونه (*V. radiata* subsp. *radiata*) زراعی (شکل ۲۱ الف) و دو زیرگونه (*V. radiata* subsp. *glabra* و *V. radiata* subsp. *sublobata*) وحشی هستند. زیرگونه *V. radiata* var. *sublobata* که به آسانی با زیرگونه زراعی قابل تلاقی است به عنوان جد وحشی این گیاه معرفی شده است (Singh, 2013).

در خصوص منشأ گیاه ماش اختلاف عقیده بین محققین مشاهده می‌شود. این گیاه عمدتاً در هند، چین و آسیای جنوب شرقی کشت می‌شود و اهلی‌سازی این گیاه براساس اندازه دانه در شمال غربی و جنوب هند به صورت جداگانه، رخ داده است. اما تاموکا و همکاران (Tomooka et al., 1992) ذکر کردند که اهلی‌سازی ماش در ایران اتفاق افتاده جایی که جد آن یعنی گونه *Vigna radiata* subspecies *sublobata* حضور دارد. اسلام و همکاران (Islam et al.,)

(2016) نیز منشأ ماش را کشورهای خشک مانند افغانستان، عراق و ایران ذکر نمودند.

مرکز تحقیقات بین المللی سبزیجات^۱ بزرگترین کلکسیون ماش را در جهان دارد. تعداد نمونه های ژنتیکی ماش در این مرکز ۶۷۴۲ نمونه است که با در نظر گرفتن زیر نمونه ها^۲ این تعداد به ۹۶۴۹ نمونه می رسد. در این مرکز کلکسیون هسته ماش متشکل از ۱۴۸۱ نمونه ژنتیکی با انتخاب تصادفی ۲۰ درصد از این نمونه های کلکسیون اصلی بر اساس مختصات جغرافیایی محل جمع آوری نمونه ها و هشت صفت فنوتیپی و کلکسیون هسته کوچک متشکل از ۲۸۹ نمونه ژنتیکی از طریق تجزیه ژنتیکی کلکسیون هسته با استفاده از بیست نشانگر SSR تشکیل شده است (Schafleitner *et al.*, 2015). بانک ژن ملی چین با بیش از ۵۰۰۰ نمونه ژنتیکی ماش (Bansal *et al.*, 2019) و بانک ژن هند با ۱۵۳۲ نمونه ژنتیکی به ترتیب رتبه های بعدی را در میان کلکسیون های جهانی این گیاه دارند (Bisht and Singh, 2013). کلکسیون ماش بانک ژن گیاهی ملی ایران متشکل از ۳۰۰ نمونه ژنتیکی جمع آوری شده از سراسر کشور است، نمونه های ژنتیکی این کلکسیون از نظر صفات عملکرد دانه، زیست توده، وزن بوته، تعداد و وزن دانه و غلاف در بوته و تعداد خوشه بیش ترین ضریب تغییرات فنوتیپی را دارند. وزن صد دانه نمونه ها از ۳ تا ۱۲ گرم و طول غلاف از ۷ تا ۱۶ سانتی متر در بین این نمونه ها متغیر است (پوراسماعیل و همکاران، ۱۴۰۰). شکل های ۲۲ و ۲۳ تنوع برخی صفات زراعی را در این کلکسیون به تصویر کشیده است.

1- AVRDC; The World Vegetable Center

2- sub-accessions



شکل ۲۲- رنگ گل (الف)، غلاف های فراهم در بالای بوته (ب)، تیپ رشد ایستاده (ج) و تنوع مشاهده شده از نظر ارتفاع و تولید بیومس در بین نمونه های ژنتیکی ماش (ج)



شکل ۲۳- تنوع شکل خوشه دهی، ارتفاع خوشه، تعداد غلاف در خوشه و اندازه غلاف در نمونه های ژنتیکی ماش

زمانی که ذخیره بذری نمونه های ماش کافی نباشد، یا وقتی که در زمان پایش دوره ای قدرت حیات بذری درصد جوانه زنی در کلکسیون های پایه یا فعال زیر ۷۵ درصد باشد نمونه ژنتیکی نیاز به احیا دارد. ماش گیاهی خودگشن است اما گاهی دگرگشنی در این گیاه دیده می شود. در این شرایط رعایت فاصله ایزوله سه متری کفایت می کند (Malik and Zahir, 2018).

فصل کاشت و شرایط آب و هوایی

کشت ماش در محدوده وسیعی از عرض های جغرافیایی (۴۰ درجه N یا S) در مناطق با دمای روزانه بیش از ۲۰ درجه سانتی گراد در فصل رشد امکان پذیر است (HanumanthaRao et al., 2016). این گیاه محصولی با چرخه رشد

کوتاه (۶۰-۹۰ روز) است بنابراین ، نسبت به سایر محصولات تابستانی نیاز کمتری به آب دارد. دامنه دمایی مناسب برای رشد بین ۲۷ تا ۳۰ درجه سانتی گراد است. این بدان معنی است که محصول معمولاً در تابستان کشت می شود. بذر ماش را می توان زمانی کاشت که حداقل دما بیش از ۱۵ درجه سانتی گراد باشد. این گیاه به نور خورشید و طول روز ۱۱/۵ تا ۱۳ ساعته نیاز دارد (Heuzé et al., 2015).

ماش به آب زیادی نیاز ندارد، بارندگی ۴۰۰-۵۵۰ میلی متر با پراکندگی خوب در طول فصل کشت برای رشد مناسب این گیاه کفایت می کند. این گیاه با دارا بودن ریشه های عمیق و جانبی قادر به تحمل خشکی است، با این حال، در مراحل حساس رشد و نمو شامل (جوانه زنی، رشد رویشی، گلدهی و پر شدن غلاف) لازم است آب به مقدار کافی فراهم باشد. نیاز روزانه ماش بسته به میزان شدت تابش خورشید و سرعت تبخیر متفاوت است. اما به طور کلی، این گیاه به ۳/۵ میلی متر آب در روز یا حدود ۴۱۰ میلی متر آب در طول فصل رشد نیاز دارد. برای آبیاری مزرعه ممکن است از آبیاری بارانی یا آبیاری نشتی استفاده شود.

کشت بهاره این گیاه در صورتی که امکان آبیاری وجود داشته باشد، به دلیل رشد رویشی کمتر و ریسک کمتر هجوم حشرات موجب می شود که کیفیت بذر تولیدی بیشتر باشد. اگرچه ماش گیاهی مقاوم در برابر گرما و خشکسالی است، اما کشت دیر هنگام که منجر به گلدهی در دوره های با درجه حرارت بالا و رطوبت کم می شود باعث کاهش محصول می شود (Malik and Zahir, 2018).

انتخاب و آماده سازی بستر کشت

ماش در طیف وسیعی از خاک‌ها با pH بین ۶/۳-۷/۲ قابلیت رشد دارد (Heuzé et al., 2015). اما خاک‌های لومی یا لومی-شنی با زهکشی خوب را ترجیح می‌دهد. این گیاه در خاک‌های اسیدی یا قلیایی یا شرایط غرقابی نمی‌تواند رشد کند. خاکهای سنگین فقط برای کاشت در فصل خشک مناسب هستند زیرا ماش نسبت به غرقابی حساس است (Malik and Zahir, 2018). به دلیل حساسیت به شوری این گیاه لازم است EC آب آبیاری بیشتر از ۲ دسی زیمنس بر متر نباشد (سخاوت و همکاران، ۱۳۹۷).

ماش از طریق همزیستی با باکتری های تثبیت کننده نیتروژن در ریشه، نیتروژن مورد نیاز خود را بدست می‌آورد. کاربرد زیاد کودهای نیترا ته، تثبیت N را محدود می‌کند. مقدار فسفر و پتاسیم مورد نیاز بر اساس آنالیز خاک تعیین می‌شود، اما به طور کلی در خاک‌های دارای کمبود P و K، باید حدود ۳۰-۴۵ کیلوگرم در هکتار از هر یک از این عناصر قبل از کاشت استفاده شود. همچنین برای بهبود شرایط خاک استفاده از کودهای آلی نیز توصیه می‌شود. هنگام کاشت، رطوبت کافی خاک لازم است تا بذرها بتوانند به طور یکنواخت جوانه بزنند. بنابراین باید قبل از کاشت اقدام به آبیاری زمین شود (Malik and Zahir, 2018).

روش احیا و مدیریت زراعی

فاصله ردیف‌ها برای کاشت ماش ۳۰ تا ۴۵ سانتی‌متر (تا ۶۰ سانتی‌متر) توصیه شده است. گیاهان روی پشته به فاصله ۵-۱۰ سانتی‌متری از هم در عمق ۲/۵ سانتی‌متری کاشته می‌شوند (شکل ۲۴). پس از جوانه‌زنی و ظهور گیاهچه‌ها با

تنک نمودن فاصله بین گیاهان به ۱۵ سانتی متر رسانده می شود. تنک کردن ۷-۱۰ روز پس از جوانه زنی انجام می شود (Malik and Zahir, 2018).

آبیاری بستگی به شرایط مزرعه، میزان بارندگی و شرایط آب و هوایی دارد. معمولاً آبیاری اول بلافاصله پس از استقرار گیاهچه ها صورت می گیرد. سپس دو یا سه آبیاری با فاصله پانزده روز اعمال می شود. زمان گلدهی و مراحل اولیه پر شدن غلاف ها کلیدی ترین زمان برای اعمال آبیاری هستند. مزرعه ماش باید طوری مدیریت شود که ضمن فراهم شدن آب کافی در زمان پر شدن غلاف ها از آبیاری زیاد که موجب به تاخیر انداختن زمان رسیدن می شود نیز خودداری گردد. آخرین آبیاری به فاصله ۵۰ روز پس از کشت باید انجام شود (Anonymus, 2010 و Malik and Zahir, 2018). سخاوت و همکاران (۱۳۹۷) اعمال دو آبیاری در دوره های گلدهی و رشد غلاف و سه آبیاری در مرحله رشد رویشی را توصیه نمودند.

کنترل علف های هرز ۲-۳ هفته پس از ظهور گیاهچه ها حیاتی است. علف های هرز موجب ۴۰-۳۰ درصد کاهش محصول در گیاه ماش می شوند. علف کش های پس از استقرار می تواند کمک موثری به کنترل علف های هرز نماید. کنترل جمعیت علف های هرز در طول رشد و نمو گیاه نیز ضرورت دارد. ماش به کمبود روی حساس است، با کاربرد سولفات روی مونوهیدراته در خاک پیش از کاشت و یا اسپری کردن برگ ها با هپتاهیدرات سولفات روی می توان نیاز روی این گیاه را برطرف نمود (Malik and Zahir, 2018).



شکل ۲۴- کشت نمونه‌های ژنتیکی ماش در مزرعه بانک ژن گیاهی ملی ایران به منظور احیا

مدیریت برداشت و ذخیره‌سازی

برداشت ماش باید در زمان بالغ و خشک شدن غلاف‌ها اما قبل از خرد شدن آنها انجام شود. رسیدن غلاف‌ها در توده‌های بومی ماش یکنواخت نیست (شکل ۲۵) و این امر تصمیم‌گیری در مورد زمان برداشت را دشوار می‌کند. به‌طور کلی، برداشت باید زمانی آغاز شود که نیم تا دو سوم غلاف‌ها بالغ شده باشند. عمدتاً این زمان ۶۰-۷۰ روز پس از کاشت شروع می‌شود. در زمان بلوغ غلاف‌های بالغ قهوه‌ای و سپس سیاه می‌شوند. برداشت دیر خسارات ناشی از خرد شدن به واسطه شکننده بودن و شکوفا بودن غلاف‌ها در حین عملیات برداشت را افزایش می‌دهد. لذا برای برداشت و احیا مقدار کافی بذر، برداشت‌های متعدد از غلاف‌های رسیده ضرورت دارد. برداشت به صورت دستی انجام می‌شود و هر ۳ تا ۵ روز یکبار تکرار می‌شود.

تعداد برداشت بستگی به رطوبت و حاصلخیزی خاک و شرایط رشد گیاه و شرایط جوی دارد. برای جلوگیری از کاهش خسارات ناشی از شکننده بودن

غلاف‌ها توصیه می‌شود برداشت در زمانی که رطوبت دانه (۱۴ تا ۱۶ درصد) است انجام شود و از برداشت در اواسط روز اجتناب شود و بهتر است در صبح و عصر انجام شود که رطوبت هوا بیشتر است.



شکل ۲۵- عدم یکنواختی رسیدن غلاف‌ها در نمونه ژنتیکی ماش

مصادف شدن زمان برداشت با باران‌های مداوم و رطوبت زیاد ناشی از آن می‌تواند کیفیت بذره‌ای برداشت شده را به شدت کاهش دهد. علاوه بر اینکه رطوبت زیاد در زمان بلوغ باعث جوانه‌زنی بذر قبل از برداشت و از بین رفتن بذرها می‌شود بلکه منجر به مشکلات بیماری و تلفات برداشت محصول به دلیل تاخیر در رسیدن نیز می‌شود.

در زمان برداشت مکانیزه برای از بین بردن برگ سبز و غلاف‌های سبز باقی مانده گیاهان اغلب قبل از برداشت با مواد خشک کن نظیر دی‌کوات یا پاراکوات به میزان ۲-۳ لیتر در هکتار اسپری می‌شوند (Malik and Zahir, 2018). پس از برداشت، وقتی غلاف‌ها به اندازه کافی خشک شدند، با قرار دادن غلاف‌های خشک شده در گونی و وارد کردن ضرباتی با چوب به روشی که به دانه‌های ماش آسیب نرسد تلاش می‌شود تا همه دانه‌ها از غلاف‌ها جدا شوند. در مقیاس بزرگ خرمکوب‌های مکانیکی برنج می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند.

ملاحظات احیا نمونه‌های ژنتیکی باقلا

گیاه باقلا *Vicia faba* L. متعلق به تیره Fabaceae از جنس *Vicia* تحت عنوان Faba است. اگرچه باقلا در جنس *Vicia* طبقه‌بندی می‌شود، اما برخی از گیاه‌شناسان استدلال می‌کنند که این گونه باید به عنوان یک جنس جداگانه مد نظر قرار گیرد. تا کنون هیچ خویشاوند وحشی برای باقلا شناسایی نشده است و این گونه با هیچ یک از گونه‌های دیگر *Vicia* هیبریدهای بارور تولید نمی‌کند (Street et al., 2008b).

بین ارقام باقلا به لحاظ رنگ و اندازه‌ی دانه (شکل ۲۶ الف) و مورفولوژی گل (شکل ۲۶ ب)، تفاوت بسیاری وجود دارد. انواع باقلا از لحاظ وزن دانه دارای تنوع وزن صد دانه با دامنه ۲۰۶-۳۵ گرم می‌باشد. در اروپا انواع دانه‌ریز^۱ را *Field bean* یا *Tick bean* می‌نامند و بیشتر برای مصارفی نظیر تغذیه دام، گیاه پوششی و کود سبز به کار می‌روند. باقلا دانه متوسط و درشت^۲ به *Broad bean*

1 - *Vicia faba* L. subsp. minor

2 - *V. faba* subsp. major Harz

معروف است، به صورت دانه سبز یا خشک مورد استفاده قرار می گیرد. باقلای دانه درشت به مناطق پر باران سازگاری دارد و دارای پتانسیل عملکرد بالاتری می باشد. ارقام دانه ریز در منطقه سردسیر و ارقام دانه متوسط تا درشت مخصوص مناطق مدیترانه‌ای، گرمسیر و نیمه گرمسیری است.

بیش از ۴۳۵۰۰ نمونه ژنتیکی باقلا در ۳۷ بانک ژن در سراسر جهان نگهداری می شوند. بزرگترین کلکسیون باقلا بالغ بر ۹۰۰۰ نمونه ژنتیکی در مرکز بین المللی تحقیقات کشاورزی در مناطق خشک (ICARDA) نگهداری می شود. آکادمی علوم کشاورزی چین^۱ با داشتن بالغ بر ۵۲۰۰ نمونه ژنتیکی باقلا دومین کلکسیون بزرگ این گیاه را دارد (Kaur et al., 2014). ژرم پلاسما باقلای موجود در ICARDA در دو مجموعه نگهداری می شود؛ مجموعه بین المللی باقلا^۲ (ILB) که شامل ۳۳۰۵ نمونه ژرم پلاسما اولیه و معمولاً تا حد زیادی غیر یکنواخت و هتروزیگوت و لاین های خالص باقلا^۳ (BPL) شامل ۵۰۰۹ لاین خالص در مراحل مختلف خویش آمیزی است (ICARDA, 2009). واریته های زراعی باقلا به پنج گروه اصلی ۱- واریته های بومی و جمعیت های حاصل از انتخاب توده ای؛ ۲- جمعیت هایی با گرده افشانی آزاد و واریته های سنتتیک؛ ۳- لاین های کاملاً خود گشن؛ ۴- هیبریدها و ۵- لاین هایی با درصد خود گشنی بالا، تقسیم می شوند.

1 The Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS)

2-International Legume Faba Bean

3- Faba Bean Pure Line Collection



شکل ۲۶- تنوع وزن صد دانه و رنگ دانه (الف) و مورفولوژی و رنگ گل (ب) در نمونه‌های ژنتیکی باقلا

در ایران نیز ژرم پلاسّم متنوعی از نمونه‌های ژنتیکی ارقام و لاین‌های جدید باقلا نگهداری می‌شود. بانک ژن گیاهی ملی ایران ۱۷۵ نمونه ژنتیکی این گیاه را حفاظت می‌کند، علاوه بر این ۴۸۰ لاین و رقم در دو گروه دانه متوسط و دانه درشت در ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان نگهداری می‌شود (شکل ۲۷)، بخشی از این مواد ژنتیکی هر ساله بر اساس اهداف اصلاحی ارزیابی و احیا می‌شوند.



شکل ۲۷- کلکسیون نمونه‌های ژنتیکی باقلا، ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان

زمانی که ذخیره بذری نمونه‌های باقلا در کلکسیون فعال به زیر ۴۰۰ دانه کاهش یابد، یا هنگامی که در زمان پایش دوره‌ای قدرت حیات بذر درصد جوانه‌زنی در کلکسیون‌های پایه یا فعال زیر ۷۵ درصد باشد نمونه ژنتیکی نیاز به احیا دارد. در مورد لاین‌های اصلاحی خالص زمانی که ذخیره بذری در کلکسیون فعال به زیر ۲۵۰ دانه کاهش یابد احیا صورت می‌پذیرد (Street *et al.*, 2008b).

کنترل دگرگرفته‌افشانی و ایزولاسیون

بیولوژی گل در باقلا به نحوی است که این گیاه حد واسط بین خودگرده‌افشان و دگرگرفته‌افشان اجباری است، عمدتاً میزان دگرگشتی بسته به نوع ژنوتیپ، شرایط محیطی، فاصله ردیف‌ها و تعداد حشرات گرده‌افشان متفاوت بوده و از ۴-۸۹ درصد متغیر است (Musallam *et al.*, 2004 و Street *et al.*, 2008b) و به دلیل چسبنده و سنگین بودن دانه‌های گرده این گیاه و

ساختمان گل، باد نقشی در گرده افشانی این گیاه ندارد و دگرگرده افشانی در این گیاه به کمک عمل ترپینگ و حشرات انجام می شود و تعداد غلاف در بوته به جمعیت زنبور بستگی دارد (Bakheit and Metwali, 2011) و (GRDC, 2017). در اروپا زنبورهای درشت خرطوم دراز نظیر (*Bambus hortum* و *Bambus agrorum*) مهم ترین ناقلین گرده هستند و زنبورهای عسل در صورتی در گرده افشانی نقش دارند که تعدادشان کافی باشد.

روش های متفاوتی برای ممانعت از دگرگرده افشانی و حفظ خلوص و تمامیت ژنتیکی نمونه های باقلا به کار گرفته می شود: یکی از این روش ها کشت با فاصله نمونه ها است که به دلیل اینکه زنبور عامل گرده افشان می باشد، این فاصله ۵۰۰ متر عنوان شده است (Street *et al.*, 2008b). فاصله ۶۰ متری، درصد دگرگرده افشانی را تا ۳ درصد و وجود فاصله ۹۰ تا ۱۸۴ متری، درصد دگرگرده افشانی را تا ۱/۲ درصد کاهش می دهد (شیخ و فیض بخش، ۱۳۹۸).

روش دیگر استفاده از قفس های ایزوله است که تمامی یادداشت برداری ها و عملیات داشت زیر آن انجام می شود (شکل ۲۸). در حالت ایده آل، سازه های طراحی شده باید قابلیت جمع شدن داشته باشند تا بتوان آنها را از فصلی به فصلی یا از یک قسمت به قسمت دیگر انتقال داد. بهتر است این سازه ها از مواد مقاوم نسبت به اشعه UV ساخته شوند. از نظر ابعاد به قدری بلند باشند تا به آسانی امکان مدیریت زراعی کرت های آزمایشی فراهم باشد و به قدری بزرگ باشند که امکان کاشت چندین کرت در آنها امکان پذیر باشد. مش توری های مورد استفاده برای ساخت این قفس ها باید طوری انتخاب شود که ضمن امکان فراهم

سازی نور کافی برای گیاهان، به اندازه کافی کوچک باشد تا از دسترسی زنبورها و سایر حشرات به گیاهان ممانعت شود. این قفس ها باید به اندازه کافی متخلخل باشد تا امکان عبور باد از درون سازه های ساخته شده فراهم باشد، زیرا حرکت گیاهان در باد منجر به افزایش خود گشنی نمونه های ژنتیکی می شود. قفس های ایزوله مورد استفاده در ایکاردا دارای ابعاد طول ۳۲ متر، عرض ۳۲ متر و ارتفاع ۲/۵ متر می باشند که جمعیت های متعددی به صورت همزمان در زیر آن کشت و احیا می شوند (Street et al., 2008b).

برای جلوگیری از درون زادآوری^۱ و فرسایش ژنتیکی متعاقب آن، گرده افشانی دستی بین افراد یک جمعیت به روش مصنوعی با استفاده از تکنیک های استاندارد گرده افشانی که بطور معمول توسط به نژاد گران به کار می رود، مورد استفاده قرار می گیرد. در روشی مشابه، به جای استفاده از یک قفس بزرگ، قفس های جدا کننده کوچک جدا گانه بر روی هر نمونه ژنتیکی قرار داده می شود و گرده افشان ها به هر قفس وارد می شوند (Street et al., 2008b).

قبل از شروع گلدهی، قفس های ایزوله باید روی کرت ها کشیده شوند. ضرورت دارد توری ها به صورت دائم چک شوند و بلافاصله سوراخ ها ترمیم شوند. برای اطمینان از عدم وجود هر گونه شکاف در پایه سازه، در محل تلاقی توری با زمین خاک روی صفحات توری قرار داده می شود (شکل ۲۸).



شکل ۲۸- نمونه ای از قفس‌های ایزوله ساخته شده در بانک ژن آلمان (IPK) برای احیا گیاهان دگرگشن

روش سوم استفاده از گیاهان جاذب حشرات به عنوان گیاهان تله برای جلب حشرات است. این روش اولین بار به وسیله رابرتسون و کاردون (Robertson and Cardon, 1986) گزارش شد. این محققین اشاره داشتند که خردل فعالیت زنبورها را در کرت‌های باقلا کاهش می‌دهد و این درحالی است که میزان لقاح درون هر کرت آزمایشی کاهش معنی‌داری پیدا نمی‌کند. این روش در سال ۲۰۰۱ توسط ساسو و مورنو (Suso and Moreno, 2001) مجدداً تایید شد به طوری که این محققین اشاره کردند کاشت گیاهان تله در اطراف کرت‌ها در مقایسه با کاشت با فاصله کرت‌ها برای محدود ساختن تلقیح بین کرت‌ها موثرتر است و بنابراین کاربرد گیاهان تله را برای کاهش میزان تلقیح بین کرت‌ها توصیه نمودند و گیاهانی نظیر *Vicia villosa*, *Vicia narbonesis*, *Brassica napus* و جنس *Hedysarum* را گزینه مناسبی برای این موضوع بیان کردند (Suso and Moreno, 2001). در مناطق معتدل کشت کلزا و خردل و در مناطق سردسیر

کشت گیاه شبدر به عنوان جذب کننده حشرات گرده افشان، یکی از موفق ترین روش های کنترل گرده افشانی محسوب می شود (Ahmed et al., 2008).

شیخ و فیض بخش (۱۳۹۸) برای کنترل دگر افشانی روش ترکیبی استفاده از گیاهان جاذب حشرات نظیر کلزا و خردل (شکل ۲۹) و کاربرد حشره کش هایی نظیر کنفیدور در سه مرحله اوایل گل دهی، زمان ۵۰ درصد گل دهی و ۸۰ درصد گل دهی را برای حصول اطمینان از خلوص نمونه ژنتیکی توصیه نمودند. جنبه های مثبت و منفی متفاوتی در ارتباط با استفاده از هر یک از این روش وجود دارد، بنابراین انتخاب بهترین روش بستگی به امکان عملیاتی نمودن یک روش با توجه به منابع موجود دارد.



شکل ۲۹- استفاده از قفس های توری و گیاهان تله
برای ایزوله کردن ژنوتیپ های مختلف باقلا

فصل کاشت و شرایط آب و هوایی

باقلا گیاهی روز بلند، یکساله، علفی، ایستاده و رشد نامحدود با دامنه سازگاری وسیع است. کشت این گیاه در عرض‌های جغرافیایی ۹ تا بیش از ۴۰ درجه شمالی و از سواحل تا ارتفاع ۲۰۰۰ متر از سطح دریا امکان پذیر است. باقلا در شرایط مدیترانه ای به صورت زمستانه در فصل بارانی کشت می‌شود. بهترین زمان کاشت در مناطق معتدل آبان‌ماه و در مناطق گرمسیری مهرماه است. در این شرایط کشت پس از اولین باران قابل توجه و زمانی که احتمال زیاد بارش بعدی وجود دارد، انجام می‌شود. کاشت به موقع باقلا باعث افزایش عملکرد و تاخیر در کاشت باعث کاهش زیست توده، کاهش دوره پر شدن غلاف، کاهش عملکرد، افزایش احتمال مواجه با تنش کم آبی و گرمای آخر فصل و کاهش کیفیت بذر می‌شود. در مناطق سردسیر کاشت بهاره باقلا مرسوم است. میزان بارندگی ۴۵۰ تا ۵۵۰ میلی متر، دمای بالاتر از ۲ - درجه سانتی گراد در فصول سرد و میانگین دمای ۱۶ تا ۲۵ درجه سانتی گراد در زمان گل‌دهی شرایط ایده‌آل کشت این گیاه محسوب می‌شوند (شیخ و فیض بخش، ۱۳۹۸).

انتخاب و آماده سازی بستر کشت

باقلا در خاک های قلیایی رشد بهتری دارد. برای اطمینان ذخیره مناسب رطوبت خاک در زمان کاشت، خاک باید در زمان کاشت زهکشی خوبی داشته باشد و عاری از علف‌های هرز باشد. باقلا گیاهی کم توقع شناخته شده است و نیاز به کود کمی دارد، ولی کمبود مواد غذایی در خاک تاثیر زیادی در عملکرد باقلا دارد. جهت استفاده از کودهای مورد نیاز گیاه، ترجیحاً باید پس از

نمونه‌گیری و آزمون خاک اقدام کرد و در یک توصیه عمومی، کود فسفات دی‌آمونیم به میزان ۱۰۰ تا ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار قبل از کاشت در نظر گرفته می‌شود. برق‌زدگی، لکه شکلاتی، زنگ، سوختگی استمفیلیومی، لکه برگ‌گی سرکوسپورایی، لکه برگ‌گی آلترناریایی و پوسیدگی اسکروتینیایی و پژمردگی آوندی مهم‌ترین بیماری‌های باقلا و عامل محدودکننده اصلی رشد گیاه در زمان احیا باقلا است. سولاریزاسیون خاک مزرعه، تناوب، استفاده از بذر سالم و عاری از بیماری‌های بذر زاد، ضد عفونی بذر، حذف گیاهان داوطلب، شخم، تنظیم تراکم، تاریخ کاشت مناسب و نوع و تغذیه خاک‌راهکارهای پیشنهادی برای فائق آمدن بر این مشکل می‌باشند (Street et al., 2008b).

روش احیا و مدیریت زراعی

برای حفظ تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها در گیاهانی نظیر باقلا حداقل باید ۴۰۰۰ بذر از هر نمونه ژنتیکی نگهداری شود. علاوه بر این باید حداقل ۱ تا ۲ کیلوگرم بذر در سردخانه فعال نگهداری شود تا امکان پاسخ به درخواست‌های واصله برای دریافت ژرم پلاسما فراهم باشد. بنابراین برای تولید مقدار کافی بذر و به حداقل رساندن تعداد سیکل احیا باید تا حد ممکن تعداد بیشتری دانه برای احیا کشت شود. از اینرو توصیه شده است که برای جمعیت‌های بومی و متنوع باقلا حداقل ۱۵۰ دانه در شش ردیف سه متری (در هر ردیف ۲۵ دانه) کاشته شود. برای لاین‌های خالص اصلاحی کاشت ۲۰ تا ۳۰ گیاه می‌تواند مقدار بذر مورد نیاز برای ذخیره‌سازی را فراهم سازد (Street et al., 2008b). پیش از کشت ابتدا بذرهای باقلا با قارچ کش مانکوزب یا کاربندازیم به مقدار ۲ گرم در هزار سی‌سی تیمار می‌شوند (شیخ و فیض بخش، ۱۳۹۸).

پس از آماده کردن زمین به وسیله کولتیواتور یا گاوآهن پنجه غازی شیارهایی به فاصله ۴۰ تا ۷۰ سانتی متر ایجاد کرده و سپس با دست یا ردیفکار اقدام به ریختن بذر در داخل جوی‌ها به فواصل حدود ۱۰ سانتی‌متر کرده، روی بذور را با خاک نرم می‌پوشانند. فاصله ردیف بسته به شرایط اقلیمی، حاصلخیزی خاک، تعداد شاخه فرعی، نوع رقم و نحوه مدیریت مراحل داشت متغیر است (شیخ و فیض بخش، ۱۳۹۸) اما به طور کلی این فاصله ۴۵ سانتی‌متر ذکر شده است (Street et al., 2008b). عمق کاشت باقلا بین ۵ تا ۷ سانتی متر در نظر گرفته می‌شود. برای مدیریت علف‌های هرز، علاوه بر امکان استفاده از علف کش‌های قبل از سبز شدن، از فاروئر جهت کنترل علف‌های هرز و خاکدهی پای بوته استفاده می‌شود. در مراحل بعدی وجین علف‌های هرز به صورت دستی انجام می‌شود. گیاهان خارج از تیپ و بوته‌هایی که خارج از ردیف‌های کشت رشد نموده اند، حذف می‌شوند. بلافاصله پس از کاشت، زمین آبیاری می‌شود. در صورت نیاز آبیاری تکمیلی برای اطمینان از عملکرد کافی بذر اعمال می‌شود. گیاهان نباید دچار تنش خشکی شوند تا از ریزش گل‌ها یا غلاف‌ها و یا عدم پر شدن غلاف‌ها جلوگیری شود (Street et al., 2008b).

مدیریت برداشت و ذخیره‌سازی

برداشت دانه خشک زمانی انجام می‌شود که اکثر غلاف‌ها از سبز به قهوه‌ای تغییر رنگ دهند و قاعده غلاف‌ها سیاه شده باشد و رطوبت در حدود ۱۴ درصد باشد. زمان خشک شدن غلاف‌ها را می‌توان با توجه به ایجاد صدای جغجغه‌ای غلاف‌ها در هنگام تکان دادن آنها تشخیص داد. برداشت به صورت دستی انجام می‌شود، به این منظور ساقه گیاه در قاعده با دست نگه داشته می‌شود و سپس کل

گیاه را از خاک بیرون کشیده و در کیسه قرار داده می‌شود. با ضربه زدن با چوب و به آرامی، غلافها را از گیاهان جدا و دانه‌ها درون پاکت های کاغذی جمع آوری می‌شوند. خشک شدن گیاهان می‌تواند قابلیت برداشت را بهبود ببخشد. بنابراین می‌توان از مواد خشک کن چند روز قبل و تا زمان برداشت استفاده کرد (Street et al., 2008b).

پس از برداشت، نمونه‌های ژنتیکی درشت دانه به صورت دستی و با استفاده از الک‌های مناسب تمیز می‌شوند. در مورد نمونه‌های ژنتیکی که بذره‌های ریزتری دارند تمیز نمودن بذرها ابتدا به صورت مکانیکی و به دنبال آن به روش دستی انجام می‌شود. در کلیه مراحل کوبیدن و تمیز نمودن بذر چه به صورت دستی و چه مکانیکی باید توجه شود که از اختلاط نمونه‌های ژنتیکی جلوگیری شود.

سپاسگزاری

ضمن پاسداشت زحمات همه اعضای هیات علمی، محققین و کارشناسانی که در زمینه احیا منابع ژنتیکی فعالیت می‌کنند. از پیشکسوتان کلکسیون حبوبات بانک ژن گیاهی ملی ایران آقای دکتر محمد جعفرآقایی که در احیا منابع ژنتیکی عدس و نخود و آقای دکتر شاهین واعظی که در احیا منابع ژنتیکی لوبیا، لوبیا چشم بلبلی و ماش تلاش‌های فراوانی نمودند، و از خانم Karina Krusch مسئول کلکسیون لوبیا موسسه تحقیقات کشاورزی و ژنتیک گیاهی آلمان (IPK) که در زمینه احیا منابع ژنتیکی لوبیا اطلاعات و دانش خود را به اشتراک گذاشتند تقدیر می‌گردد.

فهرست منابع:

۱. پوراسماعیل، م. ۱۴۰۰. منابع ژنتیکی نخود؛ اهمیت و ویژگی های حفاظتی. شماره ۶-۴۰۰، مرکز فناوری اطلاعات و اطلاع رسانی کشاورزی. ۱۲۱ صفحه.
۲. پوراسماعیل، م. و، صانعی نژاد، ع.ا.، قنبری، ع.ا. سخاوت، ر. ۱۴۰۰. ارزیابی صفات آگرومورفولوژیکی نمونه های ژنتیکی لوبیا چشم بلبلی، پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی، جلد ۱۳ شماره ۳۸ صفحات ۹۵-۱۰۶.
۳. پوراسماعیل، م. و، صانعی نژاد، ع.ا.، قنبری، ع.ا. سخاوت، ر. ۱۴۰۰. ارزیابی صفات آگرومورفولوژیکی نمونه های ژنتیکی ماش بانک ژن گیاهی ملی ایران، گزارش نهایی شماره ۶۰۴۴۷.
۴. پوراسماعیل، م.، والیانی، ا.، واعظی، ش. و جعفر آقایی، م. ۱۳۸۹. ارزیابی تنوع صفات مورفولوژیک و شناسایی روابط آنها در کلکسیون هسته نخود کابلی. مجله ژنتیک نوین، جلد ۵، شماره ۱، ۸۹-۹۹.
۵. پوراسماعیل، م.، قنواتی، ف. و بیضایی الف. ۱۳۹۱. تنوع بین گونه ای صفات مورفولوژیک در عدس های وحشی گونه های *Lens nigricans*؛ *L. ervoides* و *L. odemensis*. مجله به نژادی نهال و بذر (نهال و بذر). شماره ۴، جلد ۲۸-۱، صفحات ۵۴۵-۵۶۲.
۶. جعفر آقایی، م. ۱۳۸۰. تک نگاشت کلکسیون حبوبات بانک ژن گیاهی ملی ایران. دفتر انتقال یافته ها.
۷. سخاوت ر.، قنبری بیرگانی د.، میرزاشاهی، ک. ۱۳۹۷. دستورالعمل کاشت، داشت و برداشت لوبیا چشم بلبلی در خوزستان. نشریه فنی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی صفی آباد دزفول، شماره ثبت ۵۵۰۲۸.
۸. سخاوت ر.، قنبری بیرگانی د.، میرزاشاهی، ک. ۱۳۹۷. دستورالعمل کاشت، داشت و برداشت ماش در خوزستان. نشریه فنی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی صفی آباد دزفول، شماره ثبت ۵۵۰۸۵.

۹. شیخ ف.، فیض بخش، م. ت. ۱۳۹۸. باقلا (کاشت، داشت و برداشت)، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، نشر آموزش کشاورزی، ۹۰ صفحه.
۱۰. قنبری، ع. الف.، دری، ح. ر.، شیخ ف.، سخاوت ر.، درویشی، ب. ۱۳۹۷. دستورالعمل فنی تولید بذر حبوبات آبی. موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، شماره ثبت ۵۴۴۲۴.
۱۱. کامل، م.، شیرینی، س. و محمدی، ب. ۱۳۹۵. دستورالعمل فنی کاشت، داشت و برداشت لوبیا و معرفی ارقام. دستورالعمل فنی ترویجی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان زنجان.
۱۲. مفاخری، ن.، پوراسماعیل، م.، منصوری فر، س.، اسیلان، ک. ۱۳۹۹. بررسی تنوع صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گونه های وحشی نخود با گونه زراعی. مجله پژوهش های گیاهی، دوره ۳۳، شماره ۱، ۱۵-۱.
۱۳. واعظی، ش.، دری، ح. ر.، کامل، م.، عباسی مقدم، الف.، و پورپیغمبر، م. ۱۳۹۰. ارزیابی صفات زراعی نمونه های انتخابی لوبیا سفید بانک ژن گیاهی ملی ایران به منظور استفاده در برنامه به نژادی لوبیا. شماره ثبت ۳۹۵۶۹.

14. Ahmed. M. S. H., S. H. M. Abd-El-Haleem, M. A. Bakheitand, S. M. S. Mohamed. 2008. Comparison of three selection methods for yield and components of three faba bean (*Vicia faba* L.) Crosses. World Journal of Agricultural Sciences, 4 (5): 635-639.
15. Anonymus. 2010. Mung bean, production guildline. Department of Agriculture, Forestry and Fisheries, Republic of South Africa. Available at <https://www.daff.gov.za/docs/Brochures/MbeanpGUDELINS>
16. Bakheit, M. A. and Metwali, E. M. R. 2011. Pedigree selection for seed yield and number of pods per main stem in two segregation populations of Faba bean (*Vicia faba* L.). World Applied Sciences Journal, 15: 1246-1252.
17. Basu P.S., Ali M., and Chaturvedi S.K. 2009. Terminal heat stress adversely affects chickpea productivity in Northern India. Strategies to improve thermotolerance in the crop under climate change. In 'ISPRS Archives XXXVIII-8/W3 Workshop Proceedings: impact of climate change on agriculture'. (Eds S Panigrahy, SR Shankar, JS Parihar) pp. 189-193. (International Society for Photogrammetry and Remote Sensing: New Delhi, India)

18. Bellucci, E., Bitocchi, E., Ferrarini, A., Benazzo, A., Biagetti, E., Klie, S. 2014. Decreased nucleotide and expression diversity and modified coexpression patterns characterize domestication in the common bean. *Plant Cell*. 26, 1901–1912.
19. Biabani A., Carpenter-Boggs L., Coyne C. J., Taylor L., Smith J. L., and Higgins S. 2011. Nitrogen fixation potential in global chickpea mini-core collection. *Biology and Fertility of Soils*, 47:679-685.
20. Bisht, I.S., and Singh, M. 2013. Asian Vigna. In: J. F. Hancock (Ed), *Genetic and genomic resources of grain legume improvement*. pp. 237-267.
21. Debouck D.G. 2014. Conservation of Phaseolus beans genetic resources A strategy .
22. Dianzhi H., Laraib Y., Yong X., Jinrong H., Jihong W., Xiaosong H., Naihong F. and Qun Sh .2019. Mung Bean (*Vigna radiata* L.): Bioactive Polyphenols, Polysaccharides, Peptides, and Health Benefits. *Nutrients* 2019, 11, 1238; doi:10.3390/nu11061238.
23. Dulloo M.E., Hanson J., Jorge M.A., and Thormann I. 2008. Regeneration guidelines: general guiding principles. In: Dulloo M.E., Thormann I., Jorge M.A. and Hanson J., editors. *Crop specific regeneration guidelines [CD-ROM]*. CGIAR System-wide Genetic Resource Programme (SGRP), Rome, Italy. 6 pp.
24. Dumet D., Adeleke R. and Faloye B. 2008. Regeneration guidelines: cowpea. In: Dulloo M.E., Thormann I., Jorge M.A. and Hanson J., editors. *Crop specific regeneration guidelines [CD-ROM]*. CGIAR System-wide Genetic Resource Programme, Rome, Italy. 8 pp.
25. FAO, 2019. FAOSTAT Statistical Database of the United Nation Food and Agriculture Organization (FAO) statistical division. Rome. <http://www.fao.org/faostat/en/search/Chickpeas>.
26. FAO. 2014. *Genebank Standards for Plant Genetic Resources for Food and Agriculture*. Rev. ed. Rome.
27. Fatokun Ch., Girma, G., Abberton M., Gedil M., Unachukwu, N., Oyatomi O., Yusuf M., Rabbi I., and Boukar O. 2018. Genetic diversity and population structure of a mini-core subset from the world cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) germplasm collection. *Scientific Reports*, 8:16035 | DOI:10.1038/s41598-018-34555-9
28. Ferguson, M. E., Maxted, N., Slageren, M. V., and Robertson, L. D. 2000. A re-assessment of the taxonomy of *Lens* Mill. (Leguminosae, Papilionoideae, Viciaeae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. 133, 41-59.
29. Gaur PM, Tripathi S, Gowda CLL, Ranga Rao GV, Sharma HC, Pande S and Sharma M. 2010. Chickpea Seed Production Manual. Patancheru 502 324,

- Andhra Pradesh, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. 28 pp.
30. GRDC grown notes. 2017. Faba bean, plant growth and physiology. 20pp.
 31. HanumanthaRao B, Nair RM and Nayyar H (2016) Salinity and High Temperature Tolerance in Mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] from a Physiological Perspective. *Frontier in Plant Science*. 7:957. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00957>.
 32. Herridge D.F.2013. Northern region nitrogen fixation and N benefits of chickpeas and faba beans in northern farming system. Nitrogen fixation fact sheet, Grains Research and Development Corporation.
 33. Heuze V., Tran G., Bastianelli D., Lebas F. 2015. Mung bean (*Vigna radiata*). Feedipedia, a programme by INRAE, CIRAD, AFZ and FAO. <https://www.feedipedia.org/node/235> .
 34. Humeid B., Robertson L. D., Valkoun J. and Konopka J. 1998. Multiplication and rejuvenation of genetic resources at ICARDA.In: Engels, J.M.M. and Ramanatha Rao R. (eds.), *Regeneration of seed crops and their wild relatives. Proceedings of a Consultation Meeting 4–7 December1995* ICRISAT, Hyderabad, India. Pp65- 76.
 35. Ibarra-Perez FJ, Bahman E, Saines G. 1997. Estimation of outcrossing rate in common bean. *Crop Science* 37:60–65.
 36. ICARDA. 2009. ICARDA News. [On-line], Available on the www.icarda.org. Last updated 1/6/2009.
 37. Imtiaz M., Malhotra R. S., and Yadav S. S. 2011. Genetic adjustment to changing climates: chickpea. In: *Crop adaptation to climate change* (Yadav S. S., Redden R., Hatfield J.L., Lotze-Campen H., Hall A. J. W. (Editors)), Wiley-Blackwell.
 38. Islam, K.S., Roy, A., Rashid, M.H., Hossain, K., Pandit, D.B., Matin, M.A., Khan, S.H., Shahrin, S., Krupnik, T.J., 2016. Easy to use methods to improve mungbean production in Bangladesh. *Cereal Systems Initiative for South Asia (CSISA)*. International Maize and Wheat Improvement Center. Dhaka, Bangladesh.44 pages
 39. Kaiser W J., Hellier B.C., Hannan R.M. and Muehlbauer F.J. 1997. Growing techniques in conservation of wild perennial Cicer species in US Pacific Northwest. *International Chickpea and Pigeonpea Newsletter (ICPN)* 4:7-8.
 40. Kaur, S., Cogan, N., Forster, J., and Paull, J. 2014. Assessment of Genetic Diversity in Faba Bean Based on Single Nucleotide Polymorphism. *Diversity*. 6. 88-101. [10.3390/d6010088](https://doi.org/10.3390/d6010088).
 41. Long J, Zhang J, Zhang X, et al. Genetic Diversity of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Germplasm Resources in Chongqing, Evidenced by

- Morphological Characterization. *Front Genet.* 2020; 11:697. Published 2020 Jul 8. doi:10.3389/fgene.2020.00697
42. Malhotra, N., Panatu, S., Singh, B., Negi, N., Singh, D., Singh, M. and Chandora, R. 2019. Genetic Resources: Collection, Conservation, Characterization and Maintenance. In: Lentils (Eds, Singh, M.). Pages 21-41. Academic Press. 10.1016/B978-0-12-813522-8.00003-0.
 43. Malik, Sh.R. and Zahir. Z. A. 2018. Mungbean production manual. Published by university of Agriculture, Faizabad, Pakistan.
 44. Menssen, M., Linde, M., Omondi, E. O., Abukutsa-Onyango, M., Dinssa, F. F., and Winkelmann, T. 2017. Genetic and morphological diversity of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) entries from East Africa. *Scientia horticulturae*, 226, 268-276.
 45. Mfeka, N., R.A. Mulidzi, and F.B. Lewu. 2019. Growth and yield parameters of three cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) lines as affected by planting date and zinc application rate. *South African Journal of Science*, 115(1/2), 4474-[https://doi.org/10, 17159/](https://doi.org/10.17159/)
 46. Musallam I. W., Haddad N. J., Tawaha A. R. M., and Migdadi O. S. 2004. The importance of bee-pollination in four genotypes of faba bean (*Vicia faba* L.). *International Journal of Agriculture and Biology*, 6(1): 9–12.
 47. Nkhoma, N., H. Shimelis, and M.D. Laing. 2020. Assessing the genetic diversity of cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] germplasm collections using phenotypic traits and SNP markers. *BMC Genet.* 21: 110. <https://doi.org/10.1186/s12863-020-00914-7>
 48. OECD. 2016. Common bean (*Phaseolus vulgaris*), in *Safety Assessment of Transgenic Organisms in the Environment*, Volume 6: OECD Consensus Documents, OECD Publishing, Paris.
 49. Oyatomi, O., C. Fatokun, O. Boukar, M. Abberton. and C. Ilor. 2016. Screening wild vigna species and cowpea (*Vigna unguiculata*) landraces for sources of resistance to striga gesnerioides. In: *Enhancing crop genepool use: capturing wild relative and landrace diversity for crop improvement* (eds N. Maxted, M. Ehsan Dulloo and B.V. Ford-Lloyd). PP 27-31. CAB International.
 50. Pouresmael M., Zahravi M. Ghanbari, A. A. 2018. Evaluation and characterization of ICARDA elite germplasm of lentil. *Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding*. 7(1): 9-23.
 51. Prachi Bansal, Vikas Rawal, Vaishali Bansal. 2019. Pulses of Phaseolus and Vigna Genera. Pp 39-70. In: *The Global Economy of Pulses*. (Rawal, V. & Navarro, D. K., eds.). Rome, FAO.
 52. Rao NK, Hanson J, Dulloo ME, Ghosh K, Nowell D, Larinde M. 2006. Seed Handling in Genebanks. Handbook for Genebanks No. 8. Bioversity International, Rome, Italy.

53. Robertson, L.D. and C. Cardona. 1986. Studies on bee activity and out crossing in increase plots of Vicia Faba L. Field Crop Research. 15:157-164.
54. Salcedo J.M. 2008. Regeneration guidelines: common bean. In: Dulloo M.E., Thormann I., Jorge M.A. and Hanson J., editors. Crop specific regeneration guidelines [CD-ROM]. CGIAR System-wide Genetic Resource Programme, Rome, Italy. 9 pp.
55. Schafleitner, R., Nair, R.M. and Rathore, A. 2015. The AVRDC – The World Vegetable Center mungbean (*Vigna radiata*) core and mini core collections. BMC Genomics 16, 344.
56. Singh R. 2013. Development of iron and zinc enriched mungbean (*Vigna radiata* L.) cultivars with agronomic traits in consideration. PhD thesis, PhD thesis, Wageningen University. 175 pages.
57. Smýkal P., Coyne C. J., Ambrose M. J., Maxted N., Schaefer H., Blair M. W., Berger J., Greene S. L., Nelson M. N., Besharat N., Vymyslický T., Toker C., Saxena R.K., Roorkiwal M., Pandey M. K., Hu J., Li Y. H., Wang L. X., Guo Y., Qiu L. J., Redden R.J. and Varshney R. K. 2015. Legume crops phylogeny and genetic diversity for science and breeding. Critical Reviews in Plant Sciences, 34 (1-3), 43-104.
58. Stenhouse J. W. and Kameswara Rao N. 1998. Germplasm regeneration at ICRISAT. In: Regeneration of seed crops and their wild relatives. (Engels, J.M.M. and R. Ramanatha Rao, editors). Proceedings of a Consultation Meeting 4–7 December 1995, ICRISAT, Hyderabad, India Pp77-80.
59. Street K., Rukhkyan N. and Ismail A. 2008a. Regeneration guidelines: chickpea. In: Dulloo M.E., Thormann I., Jorge M.A. and Hanson J., editors. Crop specific regeneration guidelines [CD-ROM]. CGIAR System-wide Genetic Resource Programme, Rome, Italy. 10 pp.
60. Street K., Ismail A. and Rukhkyan N. 2008b. Regeneration guidelines: faba bean. In: Dulloo M.E., Thormann I., Jorge M.A. and Hanson J., editors. Crop specific regeneration guidelines [CD-ROM]. CGIAR System-wide Genetic Resource Programme, Rome, Italy. 9 pp.
61. Street K., Rukhkyan N. and Ismail A. 2008c. Regeneration guidelines: lentil. In: Dulloo M.E., Thormann I., Jorge M.A. and Hanson J., editors. Crop specific regeneration guidelines [CD-ROM]. CGIAR System-wide Genetic Resource Programme, Rome, Italy. 9 pp.
62. Suso M.J. and Moreno M.T. 2001. Strategies and procedures for the regeneration of Vicia faba L. germplasm: practical considerations. In: Maggioni, L., M. Ambrose, R. Schachl, G. Duc and E. Lipman, compilers. 2002. Report of a Working Group on Grain Legumes. Third meeting, Kraków, Poland. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

63. Takahashi, Y., P. Somta, C. Muto, K. Iseki, K. Naito, M. Pandiyan. 2016. Novel genetic resources in the genus *Vigna* unveiled from Gene Bank Accessions. *PLoS ONE* 11(1). DOI:[10.1371/journal.pone.0147568](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147568)
64. Tomooka, N., Lairungreang, C., Nakeeraks, P., Egawa, Y. and Thavarasook, C. 1992. Center of genetic diversity and dissemination pathways in mung bean deduced from seed protein electrophoresis. *Theoretical and Applied Genetics*, 83, 289-293.
65. Wang J, Gan YT, Clarke F, McDonald C.L. 2006. Response of chickpea yield to hightemperature stress during reproductive development. *Crop Science*. 46, 2171–2178.

**Ministry of Agriculture Jahad
Agricultural Research, Education and Extension Organization
Seed and Plant Improvement Institute**

**Scientific and Applied Principles
for Regeneration of Food Legume
Genetic Resources;
A Technical Handbook**

BY:

Dr. Masoumeh Pouresmael, Dr. Ali Akbar Ghanbari, Dr. Fatemeh Sheikh

2021